

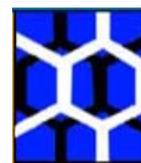


UFAL

Universidade Federal de Alagoas - UFAL

Instituto de Química e Biotecnologia

**Programa de Pós-Graduação em Química e
Biotecnologia - PPGQB**



IQB

ANA PAULA AQUINO BENIGNO

**QUANTIFICAÇÃO DE DAPIRONA EM FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS POR
INJEÇÃO EM FLUXO ATRAVÉS DO APROVEITAMENTO ANALÍTICO DO
DESCORAMENTO DE SOLUÇÃO DE KMnO_4 EM MEIO SULFÚRICO**

Maceió-AL

2011

ANA PAULA AQUINO BENIGNO

QUANTIFICAÇÃO DE DAPIRONA EM FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS POR INJEÇÃO EM FLUXO ATRAVÉS DO APROVEITAMENTO ANALÍTICO DO DESCORAMENTO DE SOLUÇÃO DE KMnO_4 EM MEIO SULFÚRICO.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, para a obtenção do Título de Mestre em Química. Área de Concentração: Química Analítica e Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Paulo dos Santos Roldan

Maceió-AL

2011

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

B467q Benigno, Ana Paula Aquino.
Quantificação de dipirona em formulações farmacêuticas por injeção em fluxo através do aproveitamento analítico do descolorimento de solução de KMnO_4 em meio sulfúrico / Ana Paula Aquino Benigno. – 2011.
159 f. : il. graf., tabs.

Orientador: Paulo dos Santos Roldan.

Dissertação (mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2011.

Bibliografia: f. 128-145.

Apêndices: f. 146-159.

1. Dipirona. 2. Análise por injeção de fluxo. 3. Espectroscopia. 4. Absorção molecular. 5. Solução de permanganato de potássio. 6. Fármaco. I. Título.

CDU: 543.42



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA



BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
 Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
 57072-970, Maceió-AL, Brasil
 Fone: (82) 3214-1384, Fax: (82) 3214-1384
 email: cpqgb@qui.ufal.br

Membros da Comissão Julgadora da Dissertação de Mestrado de **Ana Paula Aquino Benigno**, intitulada: **“Quantificação de Dipirona em Formulações Farmacêuticas por Injeção em Fluxo Através do Aproveitamento Analítico do Descoramento de Solução de KMnO_4 em Meio Sulfúrico”**, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas em 15 de dezembro de 2011, às 8:30h, na Sala de Reuniões do IQB/UFAL.

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Paulo dos Santos Roldan
 Orientador – PPGQB/IQB/UFAL

Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento
 ESENFAR/UFAL

Prof. Dr. Wander Gustavo Botero
 PPGQB/UFAL – Campus Arapiraca

DEDICO

*À minha família -
meus pais **João e Ivanir**, minha irmã **Ana Cecília**,
Ao meu esposo e companheiro **Paulo César** e minha linda princesa **Ana Luiza**,*

*Que sempre estiveram ao meu lado dando-me amor e incentivo
para conseguir ultrapassar diversos desafios...*

Agradecimentos...

À Deus, amigo de todas as horas. Mesmo diante das provações que tive que passar, ele sempre me deu força para continuar. E apesar das linhas tortas, ele sempre escreveu o que era certo, me fazendo refletir, mudar até acertar.

A toda minha família, em especial, aos meus queridos e amados pais João e Ivanir e minha irmã Ana Cecília que sempre estiveram ao meu lado, tanto nos momentos de êxito e felicidade, como também nos momentos difíceis, de desilusão. Sempre com ações de amor, amizade, companheirismo, honestidade, caridade, paciência, força e perdão.

A minha linda filha Ana Luiza, pela simples felicidade e alegria de seu existir e por seu amor.

Ao meu marido Paulo César por toda paciência, incentivo, amor e companheirismo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas pela oportunidade de execução do presente trabalho e pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Dr. Paulo dos Santos Roldan pela atenção concedida, paciência pelo atraso e, principalmente, pelo aceite de orientação deste trabalho.

Ao professor Dr. Paulo César Costa de Oliveira por sugerir e co-orientar esse tema de pesquisa, além de discutir e sugerir procedimentos inéditos para desenvolvimento deste estudo.

Ao professor Dr. Ticiano Gomes do Nascimento pela atenção, colaboração, doação de padrões para realização deste trabalho e participação da Defesa desta Dissertação.

Ao professor Dr. Josué Carinhonha pela convivência diária no laboratório, e pelos ensinamentos durante o dia-a-dia, sempre apto a esclarecer dúvidas surgidas, bem como por ter participado da Qualificação deste trabalho.

A professora Dra. Fabiane Caxico por atenção e presteza em resolver os assuntos sempre quando procurada e, principalmente, por ter aceitado participar da Qualificação deste trabalho.

Ao professor Dr. André Gustavo por sua atenção e por ter aceitado participar e contribuir da Qualificação deste trabalho.

Ao professor Dr. Wander Gustavo por sua atenção e por ter aceitado participar e contribuir da Qualificação deste trabalho, bem como da Defesa dessa dissertação.

A professora Dra. Círia Vieira Barbosa pela atenção, colaboração e doação de padrões para realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Ronaldo Ferreira do Nascimento por sua atenção e por ter aceitado participar da Defesa desta dissertação.

A Prof^ª. Dr^ª. Nadja Maria Sales de Vasconcelos por atenção, amizade e principalmente, por todos seus ensinamentos durante minha iniciação científica, que me fazem ainda hoje lembrar e utilizar em meu cotidiano profissional e pessoal.

Ao prof. Dr. Carlos Emanuel de Carvalho Magalhães por todos ensinamentos durante minha graduação e principalmente por todo incentivo para realização do meu curso de Pós Graduação.

Aos meus grandes amigos Cleiton, Vívian e Susy por sua grande amizade, apesar da distância.

Aos colegas de laboratório - Elysson, Dayane, Jocélia pela companhia diária. Em especial, a Rose que nos poucos momentos de convivência mostrou-se solidária e com excelente senso de convivência.

Ao Centro de Educação - CEDU/UFAL pela receptividade com que todos me acolheram, em especial ao prof. Dr. Elton Casado Fireman e a prof^ª. Dr^ª. Maria das Graças Marinho de Almeida e pela atenção e ensinamentos. Ainda a Jadilza, Sr. Pedro, Danilo, Edvaldo, Robson, Poliana (Poli) e Rafaela (Rafa) pela convivência diária e atenção.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Alagoas pelas contribuições para realização deste trabalho.

A todos da Secretaria da pós-graduação, em especial, a Rejane e Liliana, que sempre se mostraram prontas para ajudar.

A todos os professores do Instituto de Química e Biotecnologia que direta e indiretamente contribuíram para a minha formação durante o Mestrado.

Ao CNPq pela bolsa de mestrado concedida.

*“Não importa onde você parou...
Em que momento da vida você cansou...
O que importa é que sempre é possível **recomeçar**.
Recomeçar é dar uma nova chance a si mesmo...
É renovar as esperanças na vida e, o mais
importante...
Acreditar em você de novo.
...
Onde você quer chegar? Ir alto?
Sonhe alto... Queira o melhor do melhor...
Se pensarmos pequeno... Coisas pequenas teremos...
Mas se desejarmos fortemente o melhor e, principalmente, lutarmos pelo melhor...
O melhor vai se instalar em nossa vida.
Porque sou do tamanho daquilo que vejo, e não do tamanho da minha altura”*

Carlos Drummond de Andrade

RESUMO

Nesse trabalho desenvolveu-se procedimento analítico simples, rápido, seguro e de baixo custo utilizando análise por injeção em fluxo (FIA) com detecção espectrofotométrica para a quantificação de dipirona em medicamentos utilizando como reagente o permanganato de potássio. A metodologia consiste na oxidação da dipirona pelo KMnO_4 , em meio sulfúrico, baseando-se no aproveitamento analítico do descolorimento da solução de KMnO_4 em meio sulfúrico. O processo foi monitorado em 545 nm e a otimização de parâmetros experimentais como vazão, concentração das soluções e uso de bobina de reação foram realizadas e as melhores condições foram adotadas. Após otimização das condições experimentais, a curva de calibração obtida apresentou a seguinte equação: $\Delta A = 0,0028(\pm 0,0001)C + 0,0091(\pm 0,0023)$, sendo ΔA , a variação de absorvância e C a concentração do analito estudado (mg L^{-1}). O método proposto apresentou as seguintes figuras de méritos: faixa linear 5,0 - 250 mg L^{-1} , $r = 0,99996$, $\text{LD} = 2,46 \text{ mg L}^{-1}$ e frequência analítica de 90 injeções por hora. Avaliou-se 26 amostras de medicamentos (adquiridos aleatoriamente em farmácias na cidade de Maceió/AL), sendo 06 amostras (cápsulas) oriundas de farmácias de manipulação e 20 de medicamentos industriais - 10 amostras (comprimidos de medicamento de referência, similar e genérico) e 10 amostras (soluções orais). Os resultados obtidos através do Método Proposto foram comparados aos obtidos através da Metodologia Oficial, descrita na Farmacopéia Brasileira (2010), e aos obtidos através do Método Adaptado a partir da metodologia oficial. Os resultados apresentaram boa concordância com os obtidos através do Método Oficial. Assim, aponta-se que a utilização do Método Proposto para a determinação de dipirona em formulações farmacêuticas foi realizada com sucesso, para as amostras estudadas e analisadas demonstrando grande potencial de aplicação quando comparada com outras proposta presentes na literatura. Dentre as vantagens temos: simplicidade, rapidez, de baixo custo, elevada frequência analítica, baixa quantidade de resíduos gerada e não envolvendo complexos procedimentos de tratamento das amostras para quantificação deste princípio ativo em relação aos métodos disponíveis na literatura, podendo ser facilmente aplicado em análise de rotina de controle de qualidade de matéria prima e produto farmacêutico acabado. Os reagentes envolvidos na análise são reagentes de baixo custo e de fácil aquisição, o que torna o procedimento proposto ainda mais atraente e de fácil execução.

Palavras- Chave: Dipirona. Análise por injeção em fluxo. Espectroscopia de absorção molecular. Descolorimento de solução de permanganato de potássio. Fármacos.

ABSTRACT

In this study developed analytical procedure simple, fast, safe and low cost using flow injection analysis (FIA) with spectrophotometric detection for the quantification of dipyrone in pharmaceutical products using as a reagent potassium permanganate. The methodology consists in the oxidation of dipyrone by KMnO_4 in a sulfuric acid medium, based on the analytical use of the bleaching solution KMnO_4 in a sulfuric acid medium. The process was monitored at 545 nm and optimization of experimental parameters such as flow, concentration of the solutions and the use of reaction coil were made and the best conditions were adopted. After optimization of experimental conditions, the calibration curve obtained showed the following equation: $\Delta A = 0,0028 (\pm 0,0001) C + 0,0091 (\pm 0,0023)$, and ΔA , the change in absorbance and the C concentration analyte (mg L^{-1}). The proposed method showed the following figures of merit: linear range from 5,0 to 250 mg L^{-1} , $r = 0,99996$, LOD = 2,46 mg L^{-1} and analytical frequency of 90 injections per hour. We evaluated 26 samples of drugs (randomly purchased from pharmacies in the city of Maceió/AL) and 06 samples (capsules) derived from compounding pharmacies and 20 drug industry - 10 samples (tablets of the reference drug, generic and similar) and 10 samples (oral solutions). The results obtained by the proposed method were compared with those obtained by the official methodology, described in the Brazilian Pharmacopoeia (2010), and those obtained by Method Adapted from the official methodology. The results showed good agreement with those obtained by the Official Method. Thus, it is noted that the use of the proposed method for the determination of dipyrone in pharmaceutical formulations has been successful for the samples studied and analyzed showing great application potential compared with other proposed in the literature. Among the advantages are: simplicity, rapidity, low cost, high analytical frequency, low amount of waste generated and do not involve complex procedures for processing samples for quantification of the active ingredient in relation to the methods available in the literature and can be easily applied to analyzing routine quality control of raw materials and finished pharmaceutical products. The reagents involved in the analysis reagents are inexpensive and easy to purchase, which makes the proposed procedure even more attractive and easy to perform.

Keywords: Dipyrone. Flow injection analysis. Molecular absorption spectroscopy. The bleaching solution of potassium permanganate. Drugs.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 - Tipos de falsificação de medicamentos e sua respectiva magnitude	33
Figura 02 - Estrutura molecular de alguns derivados pirazolônicos.	37
Figura 03 - Fórmula estrutural da dipirona sódica.	38
Figura 04 - Excesso de mortalidade com o uso de analgésicos em curto prazo/ 100 milhões de usuários	40
Figura 05 - Estrutura da dipirona (a) e seus principais metabolitos - (b) MMA; (c) AA.	41
Figura 06 - Perfis de Amostra: A) Sistema de injeção em fluxo; B) Sistema multissegmentado, B1) Diagrama esquemático da técnica de análise por fluxo segmentado; C) Sistema monosegmentado.	49
Figura 07 - Diagrama esquemático de um típico sistema FIA.	53
Figura 08 - Ilustração/configuração de uma bomba peristáltica (a); Bomba peristáltica, cassete e tubos de propulsão utilizados no presente estudo (b)	55
Figura 09 - Injetor-Comutador manual de 6 vias e a ilustração de sua configuração	56
Figura 10 - Injetor-comutador utilizado no presente estudo	56
Figura 11 - Confluência e bobina de mistura utilizados no presente estudo.	57
Figura 12 - Célula de fluxo e detector utilizados no presente estudo	58
Figura 13 - Reação entre a dipirona e o iodo, através da reação de oxidação-redução	59
Figura 14 - Configuração do sistema de análise química por injeção em fluxo para determinação de dipirona	78
Figura 15 - Espectro de absorção dos íons MnO_4^- no visível.	84
Figura 16 - Espectro de absorção dos íons MnO_4^- (em meio sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) no visível.	85
Figura 17 - Influência do volume de amostra/padrão injetado (n=3).	86
Figura 18 - Influência do comprimento da bobina de reação (n=3).	87
Figura 19 - Influência da vazão do sistema (n=3).	89
Figura 20 - Avaliação da concentração da solução transportadora – ácido sulfúrico, em relação sinal analítico (n=3).	90
Figura 21 - Avaliação da concentração da solução de permanganato de potássio em relação sinal analítico (n=3).	91
Figura 22 - Avaliação da concentração do H_2SO_4 (mol L^{-1}) utilizado na dissolução/preparação da solução do padrão de dipirona em relação ao Sinal Analítico (n=3) (a), Efeito do pH da solução do padrão dipirona versus Sinal Analítico (n=3) (b).	92
Figura 23 - Configuração do sistema FIA para o método proposto.	94

- Figura 24** - Comparação da sensibilidade das curvas analíticas construídas em dias distintos. 100
- Figura 25** - Comparação de métodos analíticos – Oficial e Proposto para quantificação de dipirona. 102
- Figura 26** - Comparação de métodos analíticos – Adaptado e Proposto para quantificação de dipirona. 103
- Figura 27** - Curva analítica para quantificação da dipirona. 105

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Participação (%) dos medicamentos genéricos em diversos países.	26
Tabela 02 - Diferenças entre medicamentos industrializados e manipulados em farmácias magistrais.	29
Tabela 03 - Levantamento bibliográfico que utilizem análise por injeção em fluxo para quantificação da dipirona.	45
Tabela 04 - Figuras de méritos de publicações de quantificação da dipirona que utilizaram FIA com detecção espectrofotométrica.	47
Tabela 05 - Reagentes utilizados para realização do presente estudo.	71
Tabela 06 - Composição de cada amostra preparada para realização do teste de adição e recuperação de padrão.	79
Tabela 07 - Composição de cada amostra preparada para realização do estudo de interferente através do método proposto.	82
Tabela 08 - Condições experimentais finais para o sistema FIA proposto com detecção espectrofotométrica ($\lambda = 545 \text{ nm}$).	93
Tabela 09 - Data, equações da reta e forma das amostras utilizadas para estudo da adição e recuperação de padrão de dipirona	95
Tabela 10 - Recuperação das soluções padrão de dipirona adicionada às amostras de formulações farmacêuticas e analisadas pelo método proposto.	96
Tabela 11 - Resultados do t calculado.	99
Tabela 12 - Coeficientes angulares das curvas analíticas de calibração de soluções padrão de dipirona para avaliação da repetitividade do método proposto.	100
Tabela 13 - Valores da variação de absorbância obtidos em 545 nm para a construção da curva analítica para determinação de dipirona através do método proposto.	104
Tabela 14 - Tipo, forma, concentração de dipirona rotulada no medicamento (mg) e massa média de comprimidos/cápsulas.	112
Tabela 15 - Tipo, forma, concentração de dipirona rotulada no medicamento (mg mL^{-1}) e densidade de cada solução oral.	113
Tabela 16 - Resultados do padrão obtidos através do método oficial, adaptado e proposto.	114
Tabela 17 - Resultados obtidos para os métodos oficial, adaptado e proposto para quantificar a dipirona em amostras de medicamentos.	115

Tabela 18 -	Teor mínimo e máximo esperado de medicamentos de dipirona na forma de comprimido/cápsula, baseando-se na quantidade declarada do princípio ativo (mg).	117
Tabela 19 -	Teor mínimo e máximo esperado de medicamentos de dipirona na forma de solução oral, baseando-se na quantidade declarada do princípio ativo (mg mL ⁻¹).	117
Tabela 20 -	Valores rotulados de dipirona e de substâncias coadjuvantes em amostras de medicamentos.	118
Tabela 21 -	Resultados do padrão – dipirona (na presença do padrão de cafeína) obtidos através do método oficial, adaptado.	119
Tabela 22 -	Resultados do padrão – dipirona (na presença do padrão de cafeína) obtidos através do método proposto.	120
Tabela 23 -	Figuras de méritos do método proposto e de publicações disponíveis na literatura.	126
Tabela 24 -	Resultados das amostras (comprimido e cápsulas) obtidos através do Método Oficial.	148
Tabela 25 -	Resultados das amostras (soluções orais) obtidos através do Método Oficial.	150
Tabela 26 -	Resultados das amostras (comprimido e cápsulas) obtidos através do Método Adaptado	151
Tabela 27 -	Resultados das amostras (soluções orais) obtidos através do Método Adaptado	153
Tabela 28 -	Resultados das amostras (comprimidos e cápsulas) obtidos através do Método Proposto	154
Tabela 29 -	Resultados das amostras (soluções orais) obtidos através do Método Proposto.	156
Tabela 30 -	Avaliação através do Teste F de resultados obtidos pela Metodologia Oficial e Metodologia Proposta para diferentes amostras de formulações farmacêuticas com princípio ativo dipirona	158
Tabela 31 -	Avaliação através do Teste F de resultados obtidos pelo Método Adaptado e Método Proposto para diferentes amostras de formulações farmacêuticas com princípio ativo dipirona	159

LISTA DE ABREVIATURAS

(aq)	Aquoso
(s)	Sólido
~	Aproximadamente
λ	Comprimento de Onda
μL	Microlitro
AA	4-Amino-antipirina
AAA	4 - N - acetilaminoantipirina
AINE	Anti-inflamatório não esteróide
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
C	Concentração
$^{\circ}\text{C}$	Grau Celsius
CV	Coefficiente de Variação
cm	Centímetro
COX	Enzima ciclooxigenase
d	Densidade
DCI	Denominação Comum Internacional
DPR	Desvio padrão relativo
det	Determinações
EAM	Espectrofotometria de Absorção Molecular
Eq.	Equação
ER	Erro relativo
FAAP	4-formil-amino-antipirina
FIA	Análise por Injeção em Fluxo
g	Grama
h	Hora
L	Litro
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
m/v	Relação massa por volume
MA	Método Adaptado
MAA	4-metil-amino-antipirina

MCFIA	Multi-commutation flow injection analysis
mg	Miligrama
min	Minuto
MIP	Medicamento isento de prescrição
mm	Milímetro
mmol	Milimol
MO	Método Oficial
MP	Método Proposto
nm	Nanômetro
Ø	Diâmetro
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
P	Probabilidade
p-DAC	dimetilaminocinamaldeído
pH	Potencial Hidrogeniônico
PTFE	Politetrafluoretileno
r	Coeficiente de Correlação
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
s	Desvio padrão
SDS	Dodecil sulfato de sódio
SFA	Análise de Fluxo Segmentado
SI	Injeção Sequencial
SIA	Análise por Injeção Sequencial
ST	Solução Transportadora
UV/VIS	Ultravioleta/Visível
V	Volt
v/v	Relação volume por volume
ΔA	Variação de Absorbância

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 OBJETIVOS	22
2.1 Objetivo geral	22
2.2 Objetivos específicos	22
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
3.1 Medicamentos	23
3.1.1 Medicamento de Referência x Genérico x Similar	23
3.1.2 Medicamento Oriundos de Farmácias de Manipulação	27
3.1.3 Excipientes	30
3.1.4 Falsificação de Medicamentos	31
3.1.5 Controle de Qualidade	34
3.1.5.1 Farmacopéia Brasileira	35
3.2 Aspectos Gerais sobre a Dipirona	37
3.2.1 Histórico	37
3.2.2 Química	37
3.2.3 Mercado x Toxicidade	38
3.2.4 Farmacocinética	41
3.2.5 Procedimentos para Determinação da Dipirona	42
3.3 Análise por Injeção em Fluxo	48
3.3.1 Histórico da Técnica	48
3.3.2 Princípio da Técnica	50
3.3.3 Vantagens Técnica	52
3.3.4 Componentes da Análise por Injeção em Fluxo	53
3.4 Metodologias Químicas Utilizadas	59
3.4.1 Metodologia Oficial	59
3.4.1.1 Iodo	59
3.4.1.2 Tiosulfato de Sódio	60
3.4.1.3 Amido	61
3.4.2 Metodologia Adaptada descrita na Literatura (PESTANA, <i>et al.</i> , 2008)	62
3.4.3 Metodologia Proposta	62
3.4.3.1 Permanganato de Potássio	63
3.4.3.2 Oxalato de Sódio	64
3.5 Validação Analítica	65

3.5.1 Seletividade	65
3.5.2 Linearidade	66
3.5.3 Precisão	67
3.5.3.1 Repetitividade	68
3.5.4 Exatidão	68
3.5.5 Limite de Detecção e Limite de Quantificação	68
4 PARTE EXPERIMENTAL	69
4.1 Materiais e Instrumentação	69
4.1.1 Materiais	69
4.1.2 Instrumentação	70
4.2 Reagentes e Soluções	70
4.2.1 Reagentes	70
4.2.2 Soluções – Descrição de Preparo e Padronizações	72
4.2.2.1 Metodologia Oficial descrita pela Farmacopéia Brasileira	72
4.2.2.2 Metodologia Adaptada descrita na Literatura	73
4.2.2.3 Metodologia Proposta	74
4.3 Preparação das Amostras e Metodologias Realizadas para Quantificação da Dipirona	75
4.3.1 Metodologia Oficial descrita pela Farmacopéia Brasileira	75
4.3.2 Metodologia adaptada descrita na literatura (PESTANA, et al., 2008)	76
4.3.3 Metodologia Proposta	77
4.4 Validação Metodologia Proposta	79
4.4.1 Seletividade	79
4.4.2 Linearidade	80
4.4.3 Precisão e Exatidão do Método Proposto	80
4.4.3.1 Repetitividade	81
4.4.4 Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)	81
4.5 Interferentes	82
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	83
5.1 Otimização das Condições Experimentais do Sistema	83
5.1.1 Espectro de Absorção Molecular do KMnO_4	83
5.1.2 Influência do Volume de Amostra/Padrão.	85
5.1.3 Influência do Comprimento da Bobina de Mistura.	87
5.1.4 Influência da Vazão Sobre o Sinal Analítico.	88
5.1.5 Influência da Concentração do Ácido Sulfúrico.	89
5.1.6 Influência da Concentração de Permanganato de Potássio.	90

5.1.7 Influência da Acidez no preparo das Amostras.	91
5.1.8 Condições Experimentais Adotadas para o Sistema FIA Proposto.	93
5.2 Validação do Método Proposto	95
5.2.1 Seletividade	95
5.2.2 Linearidade	98
5.2.3 Precisão e Exatidão do Método Proposto	98
5.2.3.1 Repetitividade	100
5.2.4 Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)	101
5.2.5 Método Oficial x Método Proposto	101
5.3 Curva Analítica para Quantificação de Dipirona	104
5.4 Equações Utilizadas para Quantificação da Dipirona em Amostras Reais pelo Método Oficial, Adaptado e Proposto	107
5.4.1 Metodologia Oficial	107
5.4.2 Metodologia Adaptada descrita na Literatura (PESTANA, <i>et al.</i> , 2008)	108
5.4.3 Metodologia Proposta	109
5.5 Resultados da Quantificação de Dipirona em Amostras de Medicamento	114
5.5.1 Resultados Obtidos através dos 3 Métodos Utilizados para Quantificar a Dipirona em Soluções do Padrão	114
5.5.2 Resultados Obtidos para as Amostras através dos 3 Métodos Utilizados para Quantificar a Dipirona	115
5.6 Interferentes	119
5.7 Frequência de Análise e Consumo de Reagentes	121
5.8 Vantagens e Desvantagens Associadas ao Método Oficial, Adaptado e Proposto	122
6 CONCLUSÃO	127
REFERÊNCIAS	128
APÊNDICES	146
APÊNDICE A - Resultados das Amostras de Medicamento	147
Método Oficial	148
Método Adaptado	151
Método Proposto	154
APÊNDICE B - Resultados do Teste F	157

1 INTRODUÇÃO

Os medicamentos com estrutura química conhecida revolucionaram a saúde pública e se tornaram o centro da terapia contemporânea (COLOMBO, *et al.*, 2004) (BARBERATO-FILHO, 2007). A dipirona, em função de seu baixo custo, eficiência no combate a dor e febre, e por sua disponibilidade no mercado, é o principal analgésico e antipirético consumido pela população brasileira (TUBINO, *et al.*, 2008).

Atualmente, diversas metodologias oficiais descritas em Farmacopéias para quantificação de vários fármacos utilizam metodologias analíticas clássicas que de um modo geral, necessitam de procedimentos demorados e/ou que, em alguns casos, geram resíduos ou produtos de reação que não são ambientalmente aceitáveis. Assim, diante da constante evolução do mercado farmacêutico mundial, associada a crescentes exigências de qualidade, novas metodologias capazes de substituir ou reduzir os impactos associados a esta realidade, vem sendo desenvolvidas e aperfeiçoadas (SOUZA, 2003).

Para quantificação da dipirona a Farmacopéia Brasileira recomenda titulação iodimétrica (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010), no entanto, este procedimento é muito lento, tornando-se sem aplicabilidade para laboratórios de rotina (LIMA, *et al.*, 2003).

A espectrometria de absorção molecular nas regiões do espectro do ultra-violeta e visível (200 a 800 nm) é uma das técnicas analíticas mais utilizadas nos laboratórios de rotina, pois apresenta como vantagem sua simplicidade, robustez, facilidade de operação, custo relativamente baixo, larga aplicabilidade e de um modo geral, apresenta sensibilidade apropriada, sendo ainda facilmente automatizada (WEINERT, *et al.*, 2008b) (OLIVEIRA, *et al.*, 2001) (MELCHERT, *et al.*, 2008).

O acoplamento desta técnica a sistemas de análise química por injeção em fluxo (FIA) tem se apresentado versátil em função da simplicidade e sensibilidade atingidas, facilidade de operação e possibilidade de incorporar etapas de separação, extração, aquecimento em linha, diluição, dissolução em linha, pré-concentração, entre outras possibilidades. Tudo isso, em condições altamente repetitivas o que permite o gerenciamento de reações em estado de não-equilíbrio (OLIVEIRA, *et al.*, 2001). Além disso, os sistemas de análise por injeção em fluxo apresentam a característica de serem simples, geralmente com baixo custo proporcionam de um modo geral, elevada frequência analítica (SUAREZ, *et al.*, 2008), o que em laboratórios de rotina e de controle de qualidade é altamente necessário (MUÑOZ, *et al.*, 2001). Ainda é possível fazer a determinação de diferentes espécies químicas de forma simultânea (ZAGATTO, *et al.*, 1983).

Nesse contexto, o desenvolvimento de metodologias rápidas e seguras para quantificação de fármacos em medicamentos é de fundamental importância, para avaliar a qualidade de matérias primas e produtos acabados da indústria farmacêutica no país.

O presente estudo teve como foco o desenvolvimento de uma nova metodologia analítica para quantificação da dipirona através do acoplamento da técnica de Análise por Injeção em Fluxo à Espectroscopia de Absorção Molecular (EAM). O fármaco escolhido para o desenvolvimento deste trabalho foi a dipirona sódica, justamente por se tratar de um medicamento comercial de alto consumo, baixo custo e ampla disponibilidade.

A partir do presente estudo espera-se contribuir para o desenvolvimento de uma nova metodologia, que seja rápida, simples e de baixo custo para avaliar o teor do fármaco supracitado, contribuindo com a avaliação de dipirona em medicamentos (de referência, similar, genérico e oriundos de farmácia de manipulação). Além disso, colaborar para futuros programas que venham a utilizar a metodologia proposta para monitorar esse fármaco.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver uma metodologia analítica para quantificar a dipirona sódica em formulações farmacêuticas através do aproveitamento analítico do descolorimento de solução de KMnO_4 em meio sulfúrico, empregando análise por injeção em fluxo e detecção espectrofotométrica.

2.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver uma metodologia analítica simples, rápida, segura, de baixo custo e, principalmente, inédita para quantificação da dipirona;
- Quantificar a dipirona sódica em amostras reais - industriais (medicamento de referência, similar e genérico) e oriundas de farmácias de manipulação, comercializadas em Maceió/AL que contenham esta substância como princípio ativo;
- Verificar se o teor do princípio ativo rotulado nas amostras analisados apresentam-se em conformidade com a legislação vigente;
- Averiguar a confiabilidade da metodologia Proposta através da comparação dos resultados obtidos com os resultados encontrados pelo Método Oficial proposto pela Farmacopéia Brasileira e pelo Método Adaptado do método oficial proposto por Pestana e colaboradores (2008);
- Validar o Método Proposto através das seguintes figuras de mérito – seletividade - recuperação de padrão, linearidade, precisão, exatidão, repetitividade, limite de detecção e quantificação;
- Avaliar possível interferência para quantificação da dipirona, através do método Oficial, Adaptado e Proposto, na presença de cafeína.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Medicamentos

Segundo, a Farmacopéia Brasileira (2010), medicamento é todo produto farmacêutico, tecnicamente obtido ou elaborado que em sua constituição contém um ou mais fármacos e outras substâncias, com finalidade profilática; curativa; paliativa; ou para fins de diagnóstico.

A eficácia de um medicamento se deve a presença de uma ou mais substâncias ativas com propriedades terapêuticas cientificamente conhecidas, que fazem parte da composição do produto, denominadas fármaco(s), droga(s) ou princípio(s) ativo(s) (ANVISA, 2010).

Medicamento, muitas vezes, é também chamado de remédio, no entanto, essas terminações não são sinônimas. Remédio está associado a todo e qualquer tipo de cuidado utilizado para curar ou aliviar doenças, sintomas, desconforto e mal-estar. Como exemplo de remédio, pode-se citar: banho quente ou massagem para diminuir as tensões; chazinho caseiro e repouso em caso de resfriado; hábitos alimentares saudáveis e prática de atividades físicas para evitar o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis; etc. Já os medicamentos são substâncias ou preparações elaboradas em farmácias (medicamentos manipulados) ou indústrias (medicamentos industriais), que devem seguir determinações legais de segurança, eficácia e qualidade (ANVISA, 2010).

3.1.1 Medicamento de Referência x Genérico x Similar

Atualmente, no mercado industrial estão disponíveis três tipos de medicamentos, que podem ser classificados em medicamento de referência, genérico ou similar (SFEIR, *et al.*, 2011).

Medicamento de Referência ou também conhecido como medicamento inovador, é aquele que foi registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária e comercializado no País, cuja eficácia, segurança e qualidade foram comprovadas cientificamente junto ao órgão federal competente, por ocasião do registro (ANVISA, 2004) (ANVISA, 2011).

Este medicamento de referência é aquele de qualquer espécie com marca/nome registrado, autorizado, em primeiro lugar, para comercialização, cuja rota de síntese, fórmulas, princípios-ativos (**BRASIL, 1996**)(GUIMARÃES; CÔRREA, 2007), é protegida por uma patente - *medicamento patenteado*, e que teve sua eficácia, segurança e qualidade reconhecida pela autoridade sanitária nacional. Após o vencimento da patente do princípio

ativo, qualquer especialidade farmacêutica pode legalmente ser copiada, mediante uma especialidade dita genérica e/ou similar, que será comercializada sob Denominação Comum Internacional (DCI) ou novo nome de marca (visto que os nomes de marca são protegidos), por um fabricante especializado, ou não, em genéricos e similares (SANTOS, 2004).

Hasenclever e colaboradores (2008) fazem uma excelente reflexão a respeito da patente de medicamentos, e afirmam que:

A patente no setor farmacêutico além de poder ser aplicada em um novo produto ou em um novo processo, pode também proteger uma nova formulação farmacêutica, um bem intermediário ou uma segunda indicação para um mesmo medicamento. A patente de produto proíbe qualquer possibilidade de produção do produto, mesmo para outras utilizações comerciais, e pode ser obtida para uma substância ou princípio ativo ou uma família de substâncias quimicamente relacionadas. A patente de processo protege processos de obtenção de determinado produto e pode ser usada para introduzir vantagens competitivas na empresa mesmo após a expiração da patente do produto, deixando o custo de produção das outras firmas relativamente mais alto. A patente de formulações farmacêuticas protege as formulações de uso final ou ainda um produto existente do qual não se conhece o agente terapêutico. A patente de bem intermediário protege o uso de novos compostos úteis como intermediários para a obtenção de uma substância de uso farmacêutico. A patente de segunda indicação protege um produto de determinada ação terapêutica já conhecida, mas para o qual foi descoberto um novo uso terapêutico (Hasenclever, et al., 2008).

Já, os medicamentos genéricos são comercializados pelo nome do princípio ativo (e não nome do laboratório), podem ser produzidos por laboratórios públicos e/ou privados, e recebem incentivos do governo que visam reduzir os custos repassados à população, facilitando e melhorando o acesso a eles. Baseiam-se na comprovação de equivalência farmacêutica (*in vitro*) e bioequivalência¹ terapêutica (*in vivo*) (RUMEL, et al., 2006) com os medicamentos de referência (ARAÚJO, 2004). Os genéricos são submetidos a um rigoroso controle de qualidade, para que possam ser registrados, assegurando ao consumidor que ao consumir esse medicamento, ele terá resultados exatamente iguais aos obtido consumindo um medicamento de referência (GAVLIK; GOMES, 2007).

A indústria de medicamentos genéricos originou-se na década de 60, por iniciativa do governo dos Estados Unidos (ZATTA, 2003). Em 1984 os norte-americanos estabeleceram os parâmetros que viriam a ser adotados internacionalmente para o registro deste tipo de medicamento (GRUPO PRÓ- GENÉRICOS, 2011a). Atualmente, o mercado mundial de genéricos cresce aproximadamente 17 % ao ano e movimenta aproximadamente US\$ 80 bilhões, com crescimento previsto para 2012 em torno de US\$ 120 bilhões.

¹ *Bioequivalência refere-se a quantidade e a velocidade na qual o princípio ativo é absorvido quando administrados nas mesmas condições experimentais ao mesmo indivíduo (YACUBIAN, 2007) (NOËL, et al., 2004).*

Apenas nos Estados Unidos, onde os genéricos têm mais de 20 anos de existência, a comercialização de genéricos corresponde a uma ordem de US\$ 22 bilhões, correspondendo a 60% das prescrições nos EUA e custando de 30 a 80% menos que os medicamentos de referência. Assim, estima-se que os consumidores norte-americanos economizam entre 8 e 10 bilhões de dólares ao ano com a aquisição de medicamentos genéricos (GRUPO PRÓ-GENÉRICOS, 2011b).

Três anos após o Brasil voltar a respeitar o direito de patentes, em 1996, foi criado o programa de medicamentos genéricos (GRUPO PRÓ- GENÉRICOS, 2011a), através da promulgação da Lei nº 9.787 de 10 de fevereiro de 1999 que trata especificamente deste tipo de medicamento. Baseando nesta, medicamento genérico foi definido como:

Medicamento similar a um produto de referência ou inovador, que se pretende ser com este intercambiável², geralmente produzido após a expiração ou renúncia da proteção patentária ou de outros direitos de exclusividade, comprovada a sua eficácia, segurança e qualidade, e designado pela Denominação Comum Brasileira (DCB) ou, na sua ausência, pela DCI (Lei nº 9.787 de 10/02/1999).

A política de medicamentos genéricos foi discutida e implantada objetivando gerar uma maior acessibilidade aos medicamentos (CHORILLI, *et al.*, 2010), estimulando a concorrência entre produtos farmacêuticos, fazendo com que os consumidores tenham mais opções disponíveis entre produtos intercambiáveis de diferentes preços, ocasionando a competição e, conseqüentemente, a redução dos preços dos medicamentos, trazendo, então, benefícios a todos os segmentos envolvidos na cadeia de produção, controle, comercialização e, principalmente, consumo (CARVALHO, *et al.*, 2006).

No mercado de medicamentos brasileiro, a comercialização de genéricos tem crescido, consideravelmente. Entre, 2001 e 2002, cresceu 43,5% e representava 5% das vendas de produtos farmacêuticos em setembro de 2002. No mesmo período supracitado, os medicamentos de referência apresentaram pequena redução das vendas, já os medicamentos similares apresentaram forte queda nas vendas (VIEIRA, 2006). Em 2004, já haviam 1124 medicamentos genéricos registrados, divididos em 270 fármacos e 57 classes terapêuticas (ARAÚJO, 2010), atendendo a mais de 60% das necessidades de prescrições médicas (GRUPO PRÓ-GENÉRICOS, 2011a). No primeiro trimestre de 2011, a participação dos genéricos nas vendas de medicamentos foi de 24,1%, maior que no mesmo período de 2010, quando a participação foi de 20,6%. O objetivo dos fabricantes é atingir a marca de 30% do mercado nacional até 2012 (REVISTA SAÚDE S/A, 30/05/2011) (GRUPO PRÓ-GENÉRICOS, 2011b).

² *Intercambialidade* é um termo usado em engenharia para a troca de um produto original por outro fabricado por um concorrente, desde que atenda às mesmas especificações técnicas e tenha o mesmo desempenho (RUMEL, 2006).

Os genéricos estão presentes em vários países, na Tabela 01, pode-se observar o percentual de participação desses medicamentos no mercado farmacêutico em diferentes lugares.

Tabela 01 - Participação (%) dos medicamentos genéricos em diversos países.

País	Percentual (%) de participação dos medicamentos genéricos
Brasil	20,6%
Espanha	30%,
França	35%
Alemanha	60%
Reino Unido	60%
EUA	60%

FONTE: GRUPO PRÓ-GENÉRICOS, 2011b.

Segundo, **Associação Brasileira das Indústrias de Medicamentos Genéricos** - Grupo Pró-Genéricos (2011c), os genéricos apresentam as seguintes vantagens:

1. São medicamentos de qualidade, seguros e eficazes, comprovados através da realização de testes de equivalência farmacêutica e bioequivalência;
2. Possuem menor preço, visto que os fabricantes de genéricos não precisam investir em pesquisa para o seu desenvolvimento e nem em propaganda;
3. Estimulam a redução nos preços dos medicamentos de referência, com a entrada de medicamentos concorrentes (genéricos);
4. Possibilita a sociedade um maior acesso aos medicamentos;
5. Fortalece a indústria nacional;
6. Possibilita o desenvolvimento e/ou crescimento tecnológico das indústrias e, conseqüentemente, do país.

Em relação aos medicamentos similares, define-se:

É aquele que contém o mesmo ou os mesmos princípios ativos, apresenta à mesma concentração, forma farmacêutica, via de administração, posologia e indicação terapêutica, preventiva ou diagnóstica, do medicamento de referência registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária, podendo diferir somente em características relativas ao tamanho e forma do produto, prazo de validade, embalagem, rotulagem, excipientes e veículos, devendo sempre ser identificado por nome comercial ou marca (Lei nº 9.787, de 10 de fevereiro de 1999) (BRASIL, 2001).

Nishijima (2003) afirma que estes estão disponíveis, no Brasil, desde 1971. Mas, sua existência oficial inicia em 1976, com a promulgação da Lei nº 6360/76 (MELO, *et al.*, 2006).

Nessa época, havia grande necessidade de dispor medicamentos de baixo custo à população, assim, não foram estabelecidos critérios técnicos rígidos para desenvolvimento e registro de medicamentos similares (MELO, *et al.*, 2006). Além disso, o país não reconhecia a patente de medicamentos, assim, os laboratórios nacionais poderiam produzir medicamentos similares aos medicamentos que estariam ou não patenteados em outros países, não havendo, ainda, a exigência de comprovação da equivalência terapêutica do similar em relação ao medicamento considerado como referência. Era também permitido o registro de formas farmacêuticas e dosagens diferentes em relação ao suposto medicamento de referência (ARAÚJO, *et al.*, 2010) (HASENCLEVER, 2004).

Em 1976, a ANVISA iniciou um processo de certificação para medicamentos similares, apenas para comprovar o princípio ativo entre o medicamento similar e o de referência. Em 1996, com o reconhecimento da lei de patentes, a produção de medicamento similar poderia ser realizada apenas com o vencimento da patente do medicamento de referência (NISHIJIMA, 2003). No entanto, a idéia dos medicamentos similares permaneceu inalterada por muito tempo, sendo até republicada sua definição na Lei nº 9787/99, e no Decreto nº 3961/01. A primeira mudança em relação ao registro dos medicamentos similares ocorreu com a publicação da RDC (Resolução da Diretoria Colegiada) nº 92/2000, que proibiu a fabricação de similares de denominação genérica, e depois com a RDC nº 36/2001, que determinou o fim da comercialização dos similares com o nome do princípio ativo. Estas atitudes foram tomadas para diferenciá-los dos medicamentos genéricos (MELO, *et al.*, 2006). Em 2003, com a promulgação da RDC nº 134/2003 da ANVISA/MS, os medicamentos similares, deveriam ser submetidos a testes de equivalência farmacêutica, para garantir qualidade e intercambialidade (BRASIL, 2003).

Segundo Mahle e colaboradores (2007), a principal diferença entre o medicamento genérico e o similar é que o medicamento similar tem que utilizar obrigatoriamente nome comercial ou marca, com exceção dos casos previstos em legislação específica e, não são intercambiáveis por lei. Além disso, quanto ao registro de medicamento similar, a partir de 2003, torna-se obrigatório a apresentação dos resultados dos testes de equivalência farmacêutica e bioequivalência (ou biodisponibilidade relativa) para o seu registro e renovação (MASTROIANNI; LUCCHETTA, 2011) (ANVISA, 2003).

3.1.2 Medicamento Oriundos de Farmácias de Manipulação

“A manipulação de medicamentos, em sua forma mais simples, é a fabricação artesanal de uma formulação para atender às necessidades médicas de determinado paciente, a partir de uma substância aprovada para uso” (OKUYAMA, 2010).

Silva e colaboradores (2008b) relatam que até a década de 40 do século passado havia uma grande e forte produção de medicamentos manipulados no país, pois a quantidade de medicamento industrial era limitada aos importados, oriundos, principalmente da França.

O Brasil iniciou seu processo de crescimento do mercado farmacêutico, apenas, após a segunda guerra mundial, onde o país começou a se industrializar, sendo alvo para instalação de grandes indústrias farmacêuticas mundiais, favorecendo, assim, ao declínio do mercado de farmácias de manipulação. “Ao final da década de 70 praticamente não existia mais manipulação de medicamentos no Brasil” (SILVA, *et al.*, 2008b).

Atualmente, os medicamentos oriundos de farmácias de manipulação (ou magistral) estão cada vez mais, ganhando força no mercado farmacêutico, pois possibilita ao médico a liberdade de associar princípios ativos que não estão disponibilizados industrialmente, além de possibilitar a prescrição de medicamentos com a dose modificada e/ou ainda separar princípios ativos. O médico tem a possibilidade, ainda, de ajustar doses mais efetivas ao tratamento do paciente, reduzindo efeitos colaterais e melhorando a qualidade de vida dos pacientes (PALUDETTI, 2010) (MARCATTO, *et al.*, 2005).

Adicionalmente, a farmácia de manipulação possibilita a elaboração de dosagem do fármaco de maneira personalizada, aquisição de medicamento, geralmente, com custo mais baixo que o industrializado e a oportunidade de adquirir a manipulação de medicamentos não existentes no mercado farmacêutico, pois a farmácia de manipulação tem possibilidade de manipular fármacos de praticamente todas as categorias terapêuticas (MARCATTO, *et al.*, 2005) (AZEVEDO, *et al.*, 2008).

Antes o que era apenas uma farmácia tradicional que exercia fórmulas individualizadas em pequena quantidade, hoje, as farmácias de manipulação passaram a ser verdadeiras indústrias de médio porte, ligadas a redes de postos de atendimento, que produzem medicamentos em série possuindo máquinas capazes de produzir até três mil cápsulas por hora (ANVISA, 2005).

Okuyama (2010) cita várias situações que impedem os pacientes de utilizarem medicamento produzido industrialmente, tais como:

- Alergia em algum componente como, por exemplo, corante;
- Sensibilidade ao veículo do medicamento;
- Quando a dosagem desejada não está disponível na forma industrializada, etc.

Na Tabela 02, apresentam-se algumas diferenças entre o medicamento industrializado e os oriundos de farmácia magistral, segundo a ANVISA (2010).

Tabela 02 - Diferenças entre Medicamentos Industrializados e Manipulados em Farmácias Magistrais.

Medicamentos Industrializados	Medicamentos Manipulados em Farmácias Magistrais
São produzidos nas indústrias em grandes quantidades, utilizando equipamentos que têm capacidade para fabricar lotes de até milhares de unidades.	São manipulados para atender a uma prescrição médica e em quantidade suficiente para atender às necessidades específicas do paciente
São produzidos em dosagens ou concentrações padronizadas, de modo a serem utilizados por um grande número de pacientes.	São prescritos e manipulados numa dosagem ou concentração específica para cada paciente, sendo portanto, de uso personalizado.
Passam por controle de qualidade rigoroso durante todo o processo de produção. As matérias-primas, materiais de embalagem e produtos acabados são analisados pelo fabricante do medicamento.	Vários testes de controle de qualidade exigidos da indústria, não são viáveis em escala reduzida de produção. As análises das matérias-primas e dos materiais de embalagem são feitos pelos fornecedores e alguns testes são refeitos nas farmácias. É feita a conferência dos produtos com a fórmula e realizados alguns testes para verificar sua conformidade.
Todos os processos de fabricação são supervisionados por profissionais farmacêuticos qualificados.	Os processos de manipulação são supervisionados por profissionais farmacêuticos qualificados.
Possuem embalagens padronizadas, com rotulagem contendo dizeres obrigatórios sobre o fabricante, lote, fabricação, validade, farmacêutico responsável, entre outros. Os dados sobre indicação, uso, efeitos colaterais, contra-indicações e cuidados de conservação estão em um documento conhecido como bula.	Contém rótulos com informações sobre a farmácia responsável pela manipulação, data e validade, farmacêutico responsável e cuidados de conservação. Não contêm a bula. As informações sobre o uso, possíveis efeitos colaterais e contra-indicações devem ser prestadas pelo prescritor e pelo farmacêutico na entrega do medicamento na farmácia.
Pelo fato de terem em suas formulações, estabilizantes, conservantes e outros coadjuvantes, os medicamentos industrializados possuem um tempo maior nos seus prazos de validade, definido com base em estudos de estabilidade.	Como trata-se de um medicamento que deve ser preparado para atender às necessidades específicas de um determinado paciente, normalmente, o prazo de validade do medicamento manipulado está vinculado ao período de tratamento do paciente.
Os medicamentos industrializados devem ser registradas na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).	Os manipulados têm empresas (farmácias de manipulação) registradas e fiscalizadas pelos serviços de vigilância sanitária dos estados e municípios brasileiros.

FONTE: ANVISA, 2010, p.54.

Apesar das diversas vantagens relacionadas aos medicamentos manipulados, estes recebem severas críticas devido seu controle de qualidade (BERNARDES, *et al.*, 2010), assim, constantemente, a credibilidade das farmácias de manipulação e, conseqüentemente, dos medicamentos é colocada a prova devido a dificuldade em garantir o mesmo rígido controle de qualidade de uma indústria moderna para um medicamento produzido artesanalmente (ANVISA, 2005). Assim, Marcatto e colaboradores (2005) enfatizam que o maior obstáculo para maior crescimento e manutenção dos medicamentos magistrais é “a ausência de um rígido controle de qualidade das matérias primas, de controle do processo da produção e produtos acabados, bem como problemas de reprodutibilidade” (MARCATTO, *et al.*, 2005).

Felizmente, hoje, vem aumentando a regulamentação a respeito da atuação das farmácias magistrais (MARCATTO, *et al.*, 2005). Alguns países já regulamentaram o papel das farmácias de manipulação, garantindo a estas a característica/função complementar às indústrias, trabalhando na manipulação de produtos apenas quando não há formulação industrializada em concentrações ou formas adequadas a certos pacientes cujo estado clínico particular e excepcional exige uma medicação que foge à padronização (ANVISA, 2005).

3.1.3 Excipientes

Raramente, os fármacos possuem a capacidade de serem administrados isolados. “Eles fazem parte de uma formulação combinada com um ou mais agentes não medicinais com função de solubilizar, suspender, espessar, diluir, emulsificar, estabilizar, conservar, colorir, aromatizar e possibilitar a obtenção de formas farmacêuticas estáveis e atraentes” (SILVA, *et al.*, 2008b).

Os agentes não medicinais supracitados são denominados de excipientes ou ingredientes inativos, que segundo Balbani e colaboradores (2006) podem ser definidos como, substâncias sem poder terapêutico que são utilizadas para garantir a estabilidade, as propriedades físico-químicas e organolépticas dos produtos farmacêuticos. Oliveira e Storpirtis (1999) afirmam que as concentrações dos excipientes nos medicamentos são muito baixas, o que dificilmente acarreta em efeito colateral.

Dentre os excipientes mais comuns que podem ser encontrados em medicamentos contendo como princípio ativo a dipirona destaca-se: amido, lactose, gelatina, talco, estearato de magnésio, água deionizada, álcool etílico, metabissulfito de sódio; sulfito de sódio, cera de carnaúba, edetato de sódio; sorbitol, açúcar líquido, sorbato de potássio, benzoato de sódio, ácido cítrico anidro, fosfato de sódio, sacarina sódica diidratada, corante, essência. Além desses excipientes, pode-se encontrar a dipirona junto substâncias coadjuvantes, como: cafeína, ibuprofeno, entre outros (PEZZA, *et al.*, 2000).

3.1.4 Falsificação de Medicamentos

Um grande problema em todo o mundo, relacionado ao mercado de medicamentos é a falsificação/adulteração de medicamentos consumidos pela população (WEINERT, 2007b). Esse fato, não é uma problemática da sociedade atual. Já, no século IV a.C. foram encontrados escritos que advertem sobre os perigos oferecidos á pessoas que consomem medicamentos adulterados e, no século I, o médico grego Dioscorides identificou tais produtos e forneceu algumas orientações sobre a sua detecção (OMS; ANVISA, 2005a).

Com o crescimento da comercialização de produtos farmacêuticos, intensificou ainda mais a proliferação de indústrias não regularizadas e a comercialização, por falsificadores, de medicamentos adulterados (OMS; ANVISA, 2005a). Estima-se que um terço da população mundial não tenha acesso seguro a medicamentos (BARBERATO-FILHO; LOPES, 2007). O mercado de medicamento falsificado é bastante lucrativo, movimentando cerca de 10,5 bilhões de euros por ano (VIDA E EQUILÍBRIO, 02/08/2010).

No país, a literatura mostra que o mercado de medicamentos falsificados não é um problema de hoje, pois já em 1998 foram detectados uma variedade de anticoncepcionais, antibióticos, bem como, antipiréticos³ como a dipirona adulterados (WEINERT, 2008a). Esse tipo de mercado que se iniciou timidamente, ao longo dos anos vem tornando o país em um dos campeões mundiais da falsificação de medicamentos (PASTORE - REVISTA VEJA, 08/07/1998) (ALVES, 2008), principalmente, no Brasil, no qual: a população tem o hábito à automedicação (SEADI, 2002), e, há leis, mas falta fiscalizações (estimando-se que de três medicamentos comercializados no Brasil, apenas 1 é receitado pelo médico) (ALVES, 2008).

Assim, a análise de formulações farmacêuticas tem como objetivo não só o controle de qualidade industrial, mas também identificar idoneidade do produto (WEINERT, 2008a).

Estima-se que no país, 10% da produção farmacêutica anual seja roubada ou falsificada (ANVISA, 2004c). Segundo Weiner (2008a) o maior foco de falsificações são medicamentos que apresentam grande volume de venda ou alto custo de comercialização, dentre os quais estão a Dipirona e o Viagra®, respectivamente.

A ANVISA, em julho de 2004 determinou a apreensão de um lote de medicamento contendo a dipirona sódica, por não atender as exigências regulamentares. Em novembro do mesmo ano, a Agência supracitada determinou a interdição cautelar em todo o território nacional, de um lote de medicamento contendo também como princípio ativo a dipirona sódica. O problema verificado foi quanto ao teor de dipirona que estava abaixo da especificação do rótulo.

³ Fármaco que controla apenas o aumento patológico da temperatura (Oliveira, 2009).

Em 2008, a ANVISA apreendeu cerca de 130 toneladas de produtos sem registro, contrabandeados e falsificados no mercado (ANVISA, 2009). De acordo com dados publicados pelo Conselho Nacional de Combate à Pirataria, houve um aumento de, aproximadamente, 500% na quantidade de medicamentos apreendidos entre 2009 e 2010, tornando o produto farmacêutico o primeiro no ranking da apreensão dos produtos falsificados no país (REVISTA SAÚDE S/A, 28/03/2011).

O problema da falsificação de medicamentos é conhecido tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento. No entanto, não se pode afirmar com certeza a real e verdadeira extensão do problema, uma vez que não existem estudos mundiais a respeito do assunto (ANVISA, 2004c). Existem apenas muitos relatórios que destacam a inaceitável comercialização de produtos farmacêuticos com desvio de qualidade e/ou falsificados no mercado.

Aguiar e colaboradores (2003) destacam que a principal ação relacionada à adulteração baseia-se na substituição do medicamento por placebos, que não contém o princípio ativo, ou adulteração da quantidade deste princípio ativo, reduzindo ou anulando a ação do medicamento. O uso destes medicamentos representa um grande risco para a saúde das pessoas. Os países em desenvolvimento estão expostos com mais frequência a tais produtos, que podem ser ineficazes ou mesmo tóxicos, e que ameaçam a confiança da população no sistema de atenção à saúde (OMS, 2004).

Segundo documento elaborado pela Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) em parceria com a ANVISA (2005), a primeira discussão, em evento científico, a respeito da problemática dos medicamentos falsificados ocorreu em 1985, em uma Conferência de Especialistas no Uso Racional de Medicamentos, realizada em Nairobi. Em 1992, em Genebra, ocorreu o primeiro evento internacional visando tratar de medicamentos falsificados, em um workshop organizado pela OMS e pela Federação Internacional das Associações de Fabricantes de Produtos Farmacêuticos - IFPMA, no qual foi estabelecida a definição de medicamento falsificado,

“São aqueles deliberada e fraudulentamente rotulados de forma incorreta com relação à identificação e/ou fonte. A falsificação pode se aplicar tanto a produtos de marca quanto a genéricos, sendo que os mesmos podem incluir produtos com os princípios corretos ou incorretos, sem princípios ativos, com princípios ativos insuficientes ou com embalagem falsa” (OPAS: ANVISA, 2005).

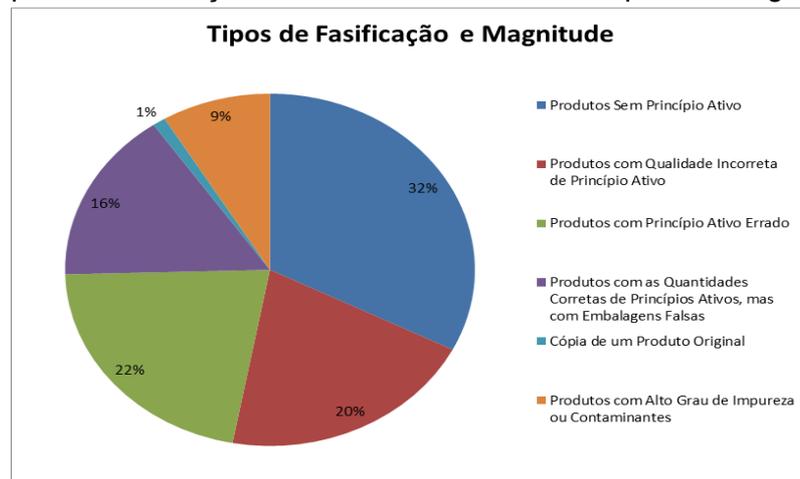
Baseando-se ainda no documento supracitado publicado pela OPAS:ANVISA (2005), vários fatores contribuem para a proliferação dos medicamentos falsificados, entre eles:

- A falta de uma legislação adequada;

- Autoridade Regulatória de Medicamentos nacional ausente ou com escasso poder;
- Não cumprimento da legislação existente;
- Sanções penais ineficazes;
- Corrupção e conflitos de interesse;
- Demanda superior a oferta;
- Preços altos;
- Inexistência de regulamentação nos países exportadores e dentro das zonas de livre comércio.

A OPAS:ANVISA (2005) agrupa em seis grupos os tipos de falsificação e, sua respectiva, magnitude, conforme apresentada na Figura 01:

Figura 01 - Tipos de falsificação de medicamentos e sua respectiva magnitude.



FONTE: Adaptado de OPAS: ANVISA, 2005.

Segundo a ANVISA (2009) o setor farmacêutico do Brasil movimenta, aproximadamente, 10 bilhões de dólares ao ano. Já, o comércio ilegal de medicamentos movimenta até R\$ 8 bilhões por ano no país (JORNAL O ESTADO DE SÃO PAULO, 02/04/2010).

Atualmente, a internet tem se transformado no principal veículo para comercialização de medicamentos falsificados em todo o mundo (ANVISA, 2010). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), 50% dos remédios vendidos na internet são falsificados (JORNAL ESTADÃO, 19/04/2010). No ano de 2010, aponta-se que ocorreram 1.693 incidentes conhecidos de medicamentos falsificados, um aumento de 7%, segundo esse grupo de laboratórios - Bristol-Myers Squibb, Roche, GlaxoSmithKline e Sanofi-Aventis (JORNAL O ESTADO DE SÃO PAULO, 20/05/2010).

Diante do crescimento da comercialização de medicamentos falsificados, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA lançou em 2010 a campanha informativa de combate à falsificação de medicamentos no Brasil, que tem como slogan “Medicamento Verdadeiro: Você Sabe o que Está Tomando” (JORNAL O ESTADO DE SÃO PAULO, 12/04/2010). Em Maceió, cidade em que as amostras de medicamentos com princípio ativo - dipirona sódica foram coletadas, a preocupação com a falsificação e/ou adulteração de medicamentos já é visível. Nesse sentido, tem havido, capacitação através de eventos como, Simpósio Alagoano de Combate a Falsificação de Medicamentos que ocorreu em 2010, para os profissionais da área farmacêutica a respeito da comercialização de medicamentos falsificados (GAZETAWEB, 10/08/2010).

Esses fatos evidenciam a suma necessidade de ampliar, cada vez mais, as fiscalizações a respeito da idoneidade dos medicamentos comercializados em todo país, atentando-se para dados externos, como rótulo, data de validade, entre outros, mas também quanto ao doseamento do(s) princípio(s) ativo(s) do medicamento. Para isso, ressalta-se a importância o aprimoramento e desenvolvimento de metodologias que sejam rápidas, simples, de baixo custo e específicas a espécie de interesse, para atender a demanda do grande volume de medicamentos, bem como sua diversidade.

3.1.5 Controle de Qualidade

“Os testes de controle de qualidade sejam eles físico-químicos, sejam microbiológicos representam informações valiosas as quais garantem que formulações farmacêuticas tenham sua eficiência terapêutica comprovada” (BARANCELLI; FERREIRA 2007).

O mercado competitivo de medicamentos apresenta diversas marcas que beneficiam a sociedade devido à possibilidade de escolha. No entanto, amplia também a responsabilidade dessas indústrias farmacêuticas e dos demais setores que produzem medicamentos, em relação à qualidade desses produtos comercializados. Pois, os produtores devem assegurar a adequabilidade dos medicamentos com relação aos fins para os quais tenham sido produzidos, garantindo que eles sejam eficazes, de qualidade e seguros (BORTOLUZI; LAPORTA, 2008).

A qualidade para medicamentos é uma exigência não apenas comercial relacionado à competitividade, pois como se trata da saúde deve ser obrigatoriamente atendida, podendo, o não cumprimento de especificações de qualidade consideradas imprescindíveis, gerar sérias implicações aos produtores farmacêuticos. O processo para garantir a qualidade, a segurança e a eficácia dos medicamentos fundamenta-se no cumprimento da regulamentação sanitária, destacando-se as atividades de controle de qualidade, inspeção e

fiscalização, com as quais é feita a verificação regular dos medicamentos produzidos e liberados para o mercado, considerando que ações dessa natureza são coordenadas nacionalmente pela ANVISA, a qual tem editado uma série de instruções normativas norteando assim, todo o processo de implementação da política de medicamentos no Brasil (LINSBINSKI, 2008) (KÖHLER, *et al.*, 2009).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária é o órgão brasileiro que regula todo o setor farmacêutico. Ela atua como uma secretaria executiva, conforme atribuições previstas na sua lei de criação, a Lei nº 9.782/99, e pelo Ministério da Saúde (NISHIJIMA, 2010).

Bernardes e colaboradores (2010) consideram controle de qualidade, todos os procedimentos que devem ser realizados pelos fabricantes e autoridades governamentais com o objetivo de garantir a população, a qualidade dos medicamentos, devendo a qualidade envolver todo processo de produção do medicamento (MENEHINI; ADAMS, 2007). Pois, a partir de um rigoroso controle de qualidade espera-se obter medicamentos cada vez mais eficazes e seguros, menos tóxicos e mais estáveis (BERNARDES, *et al.*, 2010).

Portanto, Controle de Qualidade “é o conjunto de medidas destinadas a garantir, a qualquer momento, a produção de lotes de medicamentos e demais produtos, que satisfaçam às normas de identidade, atividade, teor, pureza, eficácia e inocuidade” (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010).

3.1.5.1 Farmacopéia Brasileira

Os medicamentos, insumos farmacêuticos, e outros produtos sujeitos à vigilância sanitária devem atender às normas e especificações estabelecidas na Farmacopéia Brasileira (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010). As Farmacopéias são códigos farmacêuticos oficiais ou oficialmente adotados, que estabelecem procedimentos para identificação, padrões de qualidade e os métodos de análises dos fármacos de interesse, para isso utilizam-se testes de análises físicas, químicas e biológicas (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010).

A primeira edição da Farmacopéia Brasileira foi oficializada pelo governo federal por meio do decreto Nº 17.509 de 04/11/1926, no entanto, tornou-se obrigatória a partir de 15 de agosto de 1929. Em 1999, com a criação da ANVISA, a revisão permanente da Farmacopéia Brasileira passa a ser de responsabilidade administrativa, técnica e científica da Agência (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010).

A 5ª Edição da Farmacopéia Brasileira (2010) é apresentada em dois volumes divididos em Métodos Gerais e Monografias. Nela estão incluídos cento e setenta e seis métodos gerais e quinhentas e noventa e nove monografias, das quais duzentas e setenta e

sete de insumos farmacêuticos, duzentas e dez de especialidades, cinquenta e sete de plantas medicinais, seis de correlatos, trinta de produtos biológicos e dezenove de hemocomponentes e hemoderivados (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010).

Na ausência de monografia oficial disponível na Farmacopéia Brasileira para a matéria-prima, forma farmacêutica, correlatos e métodos gerais para o controle de insumos e produtos farmacêuticos admitir-se-á a adoção de monografia oficial, em sua última edição, de códigos farmacêuticos estrangeiros, na forma disposta em normas específicas (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010), como Farmacopéia Alemã, Americana, Britânica, Européia, Francesa, Japonesa ou Mexicana (SANTOS, 2011) (BRASIL, 2010).

Para avaliação da qualidade da dipirona sódica, seja na forma sólida, oral ou matéria-prima, pode-se utilizar a Farmacopéia Brasileira, pois nela encontra-se testes de identificação, peso, dureza, friabilidade, desintegração, uniformidade de doses unitárias, dissolução, doseamento, determinação de volume, pH, ensaio de pureza, entre outros.

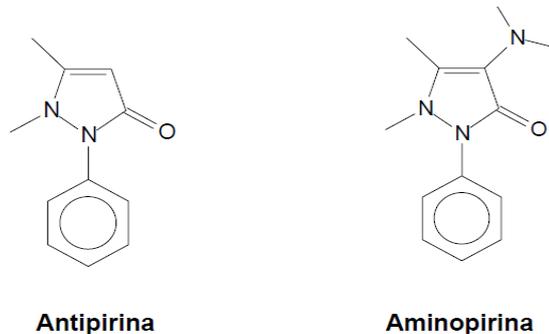
Em relação à quantificação da dipirona, que é o foco do estudo, destaca-se que a Farmacopéia Brasileira descreve a realização de uma reação de oxidação-redução, através da volumetria. Assim, a quantificação da dipirona – matéria-prima, ou presente em medicamentos (comprimidos e solução oral) ocorre através da titulação de oxi-redução direta deste fármaco com iodo (iodimetria), na presença de ácido acético, em baixa temperatura, utilizando como indicador uma solução de amido. Essa metodologia será detalhadamente descrita e discutida nos tópicos a seguir.

3.2 Aspectos Gerais sobre a Dipirona

3.2.1 Histórico

No século XIX, médicos concentraram esforços para desenvolver pesquisas terapêuticas a respeito da analgesia e da anestesia. No decorrer dos estudos, dentre as várias moléculas possuidoras de propriedades analgésicas, foi encontrada na Alemanha, a família das pirazonas, que teve uma substância - a antipirina, sintetizada em 1884. Anos mais tarde, em 1897 surgiu outro composto pertencente à mesma família, a aminopirina (MARCOLINO Jr., 2007). As estruturas das substâncias supracitadas são apresentadas na Figura 02, a seguir.

Figura 02 - Estrutura molecular de alguns derivados pirazolônicos.



FONTE: MARCOLINO Jr., 2007.

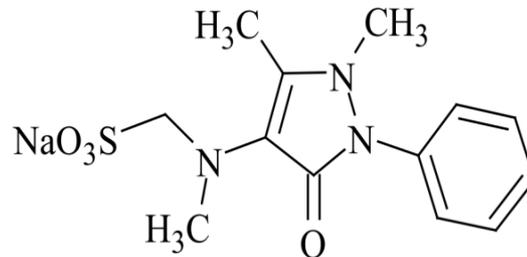
A indústria farmacêutica Hoechst AG, em 1913, extraiu a partir do alcatrão (anilina)(VALE, 2011), o primeiro composto injetável da família das pirazonas, derivado da fenilpirazilona, a dipirona (MAGNI, 2011) (MARCOLINO Jr., 2007). Já em 1921, a dipirona foi lançada no mercado farmacêutico alemão, a primeira pirazolona com utilização clínica. O medicamento lançado era um produto composto por uma mistura de 50% de dipirona e 50% de aminopirina. Inicialmente, a indicação terapêutica deste composto era analgésico e antiespasmódico, no entanto, foi avaliado até para o tratamento da tuberculose (MARCOLINO Jr., 2007).

3.2.2 Química

A dipirona sódica (sal de sódio do 1-fenil-2,3-dimetil-4-metilaminometanossulfonato-5-pirazolona); sal de sódio do ácido 1-[(2,3-diidro-1,5-dimetil-3-oxo-2-fenil-1H-pirazol-4il) metilamino]metanossulfônico hidratado, ou como também é conhecido metamizol é um derivado 5-pirazolônico com a presença de um grupo metanossulfônico na estrutura,

conforme pode ser visualizado na Figura 03, onde se apresenta sua fórmula estrutural (PEREIRA, *et al.*, 2002), possui massa molar $351,35 \text{ g mol}^{-1}$ e fórmula molecular $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{NaO}_4\text{S}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010):

Figura 03 - Fórmula estrutural da dipirona sódica.



FONTE: FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010.

A dipirona é um pó cristalino, branco e inodoro, bastante solúvel em água e metanol, pouco solúvel em etanol e praticamente insolúvel em éter etílico, acetona, benzeno e clorofórmio (KNAPPMANN; MELO, 2010). Além disso, é um anti-inflamatório não esteróide (AINE) (BARANOWSKA, *et al.*, 2006), ou seja, possui a capacidade de controlar a inflamação, a febre e de reduzir a dor (OLIVEIRA, 2009), através do mecanismo que baseia-se na inibição da síntese de proglândinas, prostaciclina e tromboxanos, e pela inibição reversível e irreversível da enzima ciclooxigenase (COX) (KNAPPMANN; MELO, 2010).

3.2.3 Mercado x Toxicidade

No Brasil, a dipirona foi introduzida em 1922 pela indústria farmacêutica Hoechst AG sob o nome de Novalgina[®] (TUBINO, 2002) (NEVES, 2004). Atualmente é muito conhecida e consumida pela população brasileira, principalmente, por ser um potente analgésico, antipirético (BIONDO, *et al.*, 2008a), antiespasmódico (MUÑOZ, *et al.*, 2001) (LIMA, *et al.*, 2003), componente antiinflamatório (IQUEGO-DIPIRONA, 2011) e por apresentar custo baixo (BIONDO, *et al.*, 2008).

A dipirona é comercializada principalmente na forma sódica e possui diversa apresentação nas formulações farmacêuticas (solução oral, injetável, comprimidos e supositórios), além disso, sua obtenção é de fácil acesso, por ser um medicamento isento de prescrição médica (MIP) (PEREIRA, *et al.*, 2002) (BIONDO, *et al.*, 2008) (KNAPPMANN; MELO, 2010).

Segundo Dal Pizzol (2009), o uso de dipirona como analgésico corresponde a 31,8% no mercado brasileiro, enquanto que a utilização do paracetamol e do ácido acetilsalicílico corresponde a 29,7 e 27,1%, respectivamente.

A literatura disponibiliza diversos estudos que tratam da comparação da eficiência de dipirona com outras substâncias como paracetamol, cloridrato de benzidamina (Fernandes e Kozlowski, 1995), ibuprofeno (MAGNI, *et al.*, 2011) (PRADO, *et al.*, 2006) (WONG, 2001) e outras substâncias (WANNMACHER, 2005) (GOZZOLI, *et al.*, 2004). Apesar dos estudos comprovarem a eficácia da dipirona como analgésico e antipirético, seu uso tem sido relacionado ao desenvolvimento de algumas doenças, como: leucopenia, pancitopenia, anemia aplástica, anafilaxia, reações dermatológicas graves, distúrbios gastrointestinais e principalmente, ao desenvolvimento de agranulocitose (MOFFATT, 1986) (HAMERSCHLAK; CAVALCANTI, 2005) (WANNMACHER, 2005).

Segundo Carneiro e colaboradores (2011) a agranulocitose é uma doença rara, grave e imprevisível de avaliar o seu desenvolvimento, é também, associada com a terapia medicamentosa, sendo sua causa idiopática. Estudos apontam ainda que um indivíduo já possa apresentar predisposição genética como fator presente na agranulocitose, sendo esta apenas, induzida pelo uso da dipirona (WANNMACHER; FERREIRA, 2004).

A agranulocitose consiste em alteração no sangue, pois ocorre uma acentuada queda na taxa de granulócitos no sangue, que se manifesta como febre, calafrios, dor de cabeça, ulcerações na garganta, no trato gastrointestinal e outras mucosas (DANIELI; LEAL, 2003) que se seguem por infecções graves. A agranulocitose foi descrita pela primeira vez em 1922, por Schultz, que lhe forneceu esse nome. Em 1930, os pesquisadores Bock e Wiede avaliaram a etiopatologia da doença, iniciando sua caracterização, onde concluíram que se devia dar maior atenção a agentes químicos e menos a agentes infecciosos. Em 1934, Madison e Squier, demonstraram que a agranulocitose poderia ser provocada pelo uso da aminopirina, que é a substância precursora da dipirona (DALL'OLIO, *et al.*, 2003). Assim, a aminopirina foi identificada como causadora da agranulocitose. Tempo depois, foi observado que a dipirona também apresentava relação entre seu uso e o aparecimento da agranulocitose (HEDENMALM; SPIGSET, 2002).

Segundo Dall'Olio e colaboradores (2003) a incidência de agranulocitose medicamentosa causada pela dipirona é desenvolvida em 0,2 a 1,1 paciente dentro de aproximadamente, 1.000.000 consumidores de dipirona, a média variando de região para região. Evidenciando um valor muito baixo para restringir o uso desta droga, que tem alta eficácia comprovada na prática clínica.

Estando no mercado mundial há mais de noventa anos, a dipirona é comercializada em mais de 100 países, dentre os quais pode-se destacar, Alemanha, Itália, França, Holanda, Finlândia, Espanha (ANVISA, 2001a). Além desses, a dipirona é amplamente utilizada no Extremo Oriente, África, América Latina e do Sul (HEDENMALM; SPIGSET, 2002). Destaca-se apenas que na Alemanha a dipirona é comercializada, sob prescrição médica, nas seguintes situações clínicas: dor aguda grave em razão de trauma ou cirurgia,

dor em cólica, dor relacionada ao câncer ou dor aguda ou crônica grave, mas apenas se outras intervenções terapêuticas já tenham falhado (PORTAL DA EDUCAÇÃO, 01/01/2008).

Apesar do amplo uso, a dipirona encontra-se banida em mais de 30 países (TUOTO, 2009). Já, na década de 1970, a dipirona foi proibida nos Estados Unidos e vários países europeus, após relatos de agranulocitose fatal entre os usuários. Na época dipirona foi proibida, mesmo havendo pouca informação disponível para quantificar o risco associado ao seu uso (BONI, *et al.*, 2011). Ressalta-se que apenas de ter sido banida dos Estados Unidos, a dipirona continua ali sendo usada por imigrantes latinos, dando origem a casos de neutropenia ou leucopenia e grave infecção associada ao medicamento, pois estudo realizado com 113 pacientes de fala espanhola ou portuguesa durante 15 dias, apontou que o fármaco era usado por 35% deles, 20% dos quais o tinham em casa e 25% o haviam comprado nos Estados Unidos (WANNMACHER; FERREIRA, 2004).

Em países como, como, Austrália, Canadá a dipirona também foi banida ou retirada de comercialização, por conta dos riscos associados ao aparecimento de agranulocitose em seus consumidores (DALL'OLIO, *et al.*, 2003). No Reino Unido, a dipirona nunca foi licenciada para comercialização. Na Suécia, todos produtos contendo dipirona foram retirados de circulação em março de 1974, devido a estimativa de 1 paciente em cada 3000 a desenvolver agranulocitose. Em setembro de 1995, foram liberados sua comercialização, mas em abril de 1999 foi novamente banida (HEDENMALM; SPIGSET, 2002).

Procurando evitar decisões regulamentares e clínicas baseados em acontecimentos adversos e isolados, Andrade e colaboradores (1998) realizaram um estudo epidemiológico em publicações entre 1970 e 1995 objetivando avaliar a associação de efeitos adversos graves - como desenvolvimento de agranulocitose, anemia aplástica, anafilaxia e hemorragia digestiva, a partir da utilização de aspirina, diclofenaco, paracetamol e dipirona, bem como determinar e comparar o excesso de mortalidade associado ao uso dessas drogas a curto prazo. Os dados deste estudo apresentaram o excesso de mortalidade de cada uma dessas drogas, são apresentados na Figura 04, sendo que o diclofenaco e a aspirina apresentaram os maiores riscos comparando com o paracetamol e a dipirona (FINOTTI, 28/10/2010).

Figura 04 - Excesso de mortalidade com o uso de analgésicos em curto prazo/ 100 milhões de usuários.



FONTE: FINOTTI, 28/10/2010; ANDRADE, *et al.*, 1998

Assim, baseando-se em estudos disponíveis na literatura, em relação à incidência de discrasias no sangue, como, anemia aplástica e/ou agranulocitose, causada pela dipirona é baixa (DANIELI; LEAL, 2003) (WANNMACHER, 2005). E, avaliando-se seus riscos e benefícios, já foi comprovada a eficácia do fármaco - dipirona, sendo que sua retirada do mercado não atenderia aos interesses da população. Além disso, para muitos a retirada da dipirona seria um procedimento precipitado, visto que ainda não há um posicionamento definitivo pelos pesquisadores quanto à segurança da dipirona (DANIELI; LEAL, 2003).

3.2.4 Farmacocinética

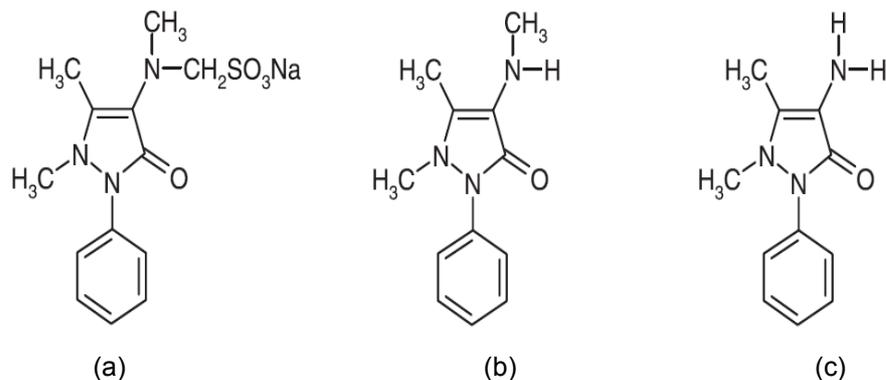
Ao ser injerida, a dipirona é hidrolisada pelo suco gástrico, sendo absorvida na forma do 4-metil-amino-antipirina (MAA), apresentando máxima adsorção em um tempo de aproximadamente 1 - 2 horas (MUÑOZ, *et al.*, 2001) (HINZ, *et al.*, 2007). E, efeito após administração por qualquer via de 4 a 6 horas (IQUEGO-DIPIRONA, 2011).

Assim, a farmacocinética da dipirona é caracterizada pela rápida hidrólise da dipirona para formação do seu principal metabólito MAA, principalmente quando se tem uma solução com baixa concentração de dipirona (LEVY, 1995) (ERGÜN, *et al.*, 2004) (HINZ, *et al.*, 2007). O MAA é convertido em uma grande variedade de metabólitos, dentre os quais destaca-se o 4-formil-amino-antipirina (FAAP) e o 4-amino-antipirina (AA), este último sendo acetilado a 4-acetil-amino-antipirina pela enzima polimórfica n-acetil-trans-ferase (HINZ, *et al.*, 2007).

Os metabólitos - MAA e AA contribuem para o efeito clínico. O grau de ligação às proteínas plasmáticas é de 58% para MAA, 48% para AA, 18% para FAAP e 14% para AAA (4 - N - acetilaminoantipirina) (IQUEGO-DIPIRONA, 2011).

A estrutura da dipirona e seus principais metabólitos são apresentados através da Figura 05.

Figura 05 - Estrutura da dipirona (a) e seus principais metabólitos - (b) MMA; (c) AA.



FONTE: HINZ, *et al.*, 2007

3.2.5 Procedimentos para Determinação da Dipirona

Na literatura existem diversos procedimentos envolvendo as mais diversas técnicas para quantificação da dipirona, dentre os quais se destacam, a cromatografia [(KATZ, *et al.*, 1984) (DAMM, 1989) (CARRETERO, *et al.*, 1993) (AGUNDEZ, *et al.*, 1994) (GEISLINGER, *et al.*, 1996) (ALTUN, 2002) (SENYUVA, *et al.*, 2005) (BARANOWSKA, *et al.*, 2006) (SHEN, *et al.*, 2007)], eletroquímica – potenciométrico [(ALBUQUERQUE, *et al.*, 2003)], amperométrico [(MATOS, *et al.*, 2000) (MUÑOZ, *et al.*, 2001) (SANTOS, *et al.*, 2009) (FELIX; ANGNES, 2010)], voltamétrico (SKEIKA, *et al.*, 2008), polarográfico (RAMADAM, *et al.*, 2011) e fluorimétrico (PEREZ-RUIZ, *et al.*, 1993); quimiluminescência (HUANG, *et al.*, 1999) (ZHAO, *et al.*, 2004), e espectrofotometria molecular de absorção ultravioleta (UV)[(DINÇ; ONUR, 1997) (DINÇ, 2001)] e visível(Vis) [(VASSILEVA-ALEXANDROVA; SHISHMANOV, 1975) (ELSADEK, *et al.*, 1990)(ACAR; ONUR, 1996) (BAUTISTA, *et al.*, 1996) (ERK; ONUR, 1996) (ERK; ONUR, 1997) (SUAREZ, *et al.*, 2011) (MARCOLINO-Jr., *et al.*, 2005a) (WEINERT, *et al.*, 2007a)].

Perez-Ruiz e colaboradores (1993) propuseram a determinação de dipirona em preparações farmacêuticas através de Análise por Injeção em Fluxo (FIA) e detecção fluorimétrica. O método consiste na oxidação da dipirona pelo cério (IV) e medida da fluorescência ao formar cério (III). O método proposto não apresentou interferências ao ser analisados medicamentos com princípios ativos além da dipirona. A única substância testada a apresentar interferência foi o paracetamol, devendo ser separado, caso em um mesmo medicamento esteja combinado a dipirona.

Marcolino-Jr. e colaboradores (2005) determinaram, indiretamente, a dipirona através de um sistema de FIA, onde havia um reator de fase sólida contendo AgCl, imobilizado em resina de poliéster, para atuar como fonte de íons Ag^+ . Esses íons Ag^+ eram reduzidos pela dipirona a Ag^0 . A suspensão coloidal contendo Ag^0 foi transportada pela solução carregadora, e detectada turbidimetricamente. A concentração de dipirona injetada no sistema foi proporcional à quantidade de Ag^0 gerada (QUEIROZ, 2008).

Santos e colaboradores (2009) desenvolveram uma metodologia amperométrica de pulso múltiplo utilizando análise por injeção em fluxo para determinação simultânea de dipirona e, indiretamente, de paracetamol em amostras de formulações farmacêuticas. As substâncias eram detectadas através da aplicação de quatro pulsos de potencial (sequenciais) em função do tempo. Dipirona foi diretamente detectada em + 0,40 V e paracetamol indiretamente em 0,00 V através da redução do produto de oxidação *N*-acetil-*p*-benzoquinonaimina, gerada eletroquimicamente em + 0,65 V.

Focando-se em publicações que tratam da quantificação da dipirona através do uso da espectrofotometria de absorção molecular, que foi a técnica utilizada para o

desenvolvimento da metodologia proposta neste estudo. Destaca-se que essa técnica tem sido muito utilizada para quantificar a dipirona através da reação do fármaco em estudo com diversos reagentes, como o iodato de potássio (QURESHI, *et al.*, 1989), nitrito de sódio, 4-dimetilaminobenzaldeído, cério (IV), N-bromosuccinimide, cloridrato 3-metil-2-benzotiazolina-hidrazona, iodato de potássio e ferro (III) - 1,10-fenantrolina (PEREZ-RUIZ, 1993) nitrato de cobalto e KSCN (LIMA, *et al.*, 2003)

Sakiara e colaboradores (1999) que determinaram a dipirona em preparações farmacêuticas através do uso do ácido cromotrópico, com detecção espectrofotométrica ($\lambda = 575$ nm). O método se baseia na oxidação da dipirona, em meio sulfúrico, originando o formaldeído que reage com o ácido cromotrópico, produzindo um composto vermelho-violeta. No entanto, essa metodologia baseia-se na utilização de ácido em concentrações elevadas, como o ácido sulfúrico $11,2 \text{ mol L}^{-1}$ e ácido cromotrópico 20% m/v, além disso, necessitava de aquecimento ($100 \text{ }^\circ\text{C}$) por 25 minutos - cada amostra, tornando-se uma metodologia tediosa e de limitada frequência de análise.

Lima e colaboradores (2003) desenvolveram um sistema de fluxo para a determinação espectrofotométrica de dipirona com p-dimetilaminobenzaldeído explorando o multi-bombeamento. A metodologia proposta utiliza várias micro-bombas para a propulsão dos fluidos envolvidos no âmbito da melhoria das condições de mistura, na introdução de alíquotas de amostra/reagente, proporcionando facilidades de deslocamento. Como consequência, o sistema de multi-bombeamento apresenta versatilidade e simplicidade múltiplas, bem como um controle operacional direto e maior capacidade analítica.

Zhao e colaboradores (2004) descreveram a determinação de dipirona usando um sensor através de um fluxo com detecção quimiluminescente. A metodologia foi proposta baseando-se na oxidação da dipirona pelo dióxido de manganês (MnO_2) na presença de rodamina B.

Pereira e colaboradores (2002) desenvolveram um sistema por injeção em fluxo para a geração de íons triiodeto - I_3^- no próprio sistema, e esse foi empregado para quantificar a dipirona em produtos farmacêuticos. O sistema desenvolvido não necessitou preparar, muito menos, padronizar as soluções de iodo, superando o problema da instabilidade desta solução pela exposição ao ar, visto que as reações ocorrem em um sistema fechado e com elevada rapidez. Os íons triiodeto gerados em linha, ao reagirem com a dipirona inserida no sistema, oxidavam o grupo metanossulfônico do fármaco a sulfato. O consumo de íons I_3^- pela dipirona provocava um decréscimo da absorvância (linha base) do complexo triiodeto-amido que foi monitorado espectrofotometricamente em 580 nm.

Weinert e colaboradores (2007a) desenvolveram um procedimento por injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica em meio micelar para a determinação de dipirona. O método foi baseado na formação instantânea de um produto vermelho-alaranjado após a

reação entre a dipirona e dimetilaminocinamaldeído *p*-(*p*-DAC) em meio ácido diluído. A sensibilidade desta reação foi aumentado na presença de dodecil sulfato de sódio (SDS).

Ainda, Weinert e colaboradores (2007), descreveram o método supracitado, que consistiu na reação da dipirona e *p*-DAC, em meio ácido, baseando-se nas medidas de reflectância do composto alaranjado produzido na reação.

Tubino e colaboradores (2010) desenvolveram um método que avaliava qualitativa e quantitativamente a dipirona. A metodologia consistia na reação da dipirona na presença do ácido cromotrópico, ferro (III) e H₂SO₄, havendo a formação de um composto de cor vermelho-violeta que indicava um resultado positivo para presença da dipirona. Na sequência, pôde-se realizar um procedimento quantitativo, com detecção espectrofotométrica em 576 nm.

Além das metodologias citadas anteriormente, apresenta-se na Tabela 03, alguns procedimentos para quantificação da dipirona desenvolvida utilizando Análise por Injeção em Fluxo, associada a diferentes técnicas de detecção.

Tabela 03 - Levantamento bibliográfico que utilizem análise por injeção em fluxo para quantificação da dipirona.

Detecção	Técnica		Matriz	Referência
	Associada	Reagente(s) Empregado(s)		
Espectrofluorescência	FIA	Cério (IV)	Preparações Farmacêuticas	PEREZ-RUIZ, <i>et al.</i> , 1993
Espectrofotometria no Visível	FIA	PbO ₂	Preparações Farmacêuticas	BAUTISTA, <i>et al.</i> , 1996
Quimiluminescência	FIA	Tween 80 sensibilizada com rodamina 6G	Preparações Farmacêuticas	HUANG, <i>et al.</i> , 1999
Amperométrica	FIA	Eletrodo Ag/AgCl	Preparações Farmacêuticas	MUÑOZ, <i>et al.</i> , 2001
Espectrofotometria no Visível	FIA	Íons triiodeto - I ₃ ⁻	Produtos Farmacêuticos	PEREIRA, <i>et al.</i> , 2002
Quimiluminescência	FIA	Luminol e dicromato de potássio	Preparações Farmacêuticas	SONG, <i>et al.</i> , 2003
Espectrofotometria no Visível	FIA	p-dimetilaminobezaldeido	Preparações Farmacêuticas	LIMA, <i>et al.</i> , 2003
Potenciométrica	FIA	<i>Tetra-Octilamônio</i>	Formulações farmacêuticas	ALBUQUERQUE, <i>et al.</i> , 2003
		Fe(III)		
Biamperometria	FIA	I ₂	Produtos Farmacêuticos	MEDEIROS, <i>et al.</i> , 2004
Quimiluminescência	FIA	MnO ₂	Produtos Farmacêuticos	ZHAO, <i>et al.</i> , 2004
Turbidimétrica	FIA	Cloreto de Prata	Produtos Farmacêuticos	MARCOLINO-JR., <i>et al.</i> , 2005
Espectrofotometria no Visível	FIA	Molibdato de Amônio	Formulações Farmacêuticas	MARCOLINO-JR., <i>et al.</i> , 2005a
		p-dimetilaminocinamaldeído (p-DAC), na		
Espectrofotometria no Visível	FIA	presença de dodecil sulfato de sódio	Produtos Farmacêuticos	WEINERT, <i>et al.</i> , 2007a
Amperométrica	FIA	N-acetil-p-benzoquinonaimina	Formulações farmacêuticas	SANTOS, <i>et al.</i> , 2009
Amperométrica	FIA	Ftalocianina de cobalto	Formulações farmacêuticas	BONI, <i>et al.</i> , 2011
Espectrofotometria no Visível	FIA	Fe(III)	Formulações farmacêuticas	SUAREZ, <i>et al.</i> , 2011

A partir do levantamento bibliográfico realizado na Tabela 03, observaram-se ainda algumas figuras de méritos apresentadas em alguns trabalhos que envolveram o processo FIA com detecção espectrofotométrica na região do visível - Tabela 04, a seguir.

Ressalta-se a importância de levantamentos dessa natureza, visto que possibilita ampliar os conhecimentos em relação a trabalhos realizados por outros pesquisadores que focaram no analito – dipirona.

Tabela 04 - Figuras de méritos de publicações de quantificação da dipirona que utilizaram FIA com detecção espectrofotométrica.

Publicação	λ (nm)	Faixa Linear (mol L ⁻¹)	Coefficiente de Correlação (r)	LD (mol L ⁻¹)	LQ (mol L ⁻¹)	Faixa de Recuperação (%)	RSD	Nível de Confiança	Frequência Analítica
PEREIRA, et al., 2002	580	$1,4 \times 10^{-4} - 7,0 \times 10^{-4}$	0,9998	$6,0 \times 10^{-5}$	-	98,8 - 101,0	< 0,45 % n=10	95%	60 det h ⁻¹
LIMA, et al., 2003	430	$0,28 \times 10^{-4} - 11,4 \times 10^{-4}$	0,9997	$0,28 \times 10^{-5}$	$0,1 \times 10^{-4}$	-	<0,12% (n = 20)	95%	50 det h ⁻¹
MARCOLINO-Jr., et al., 2005a	620	$5,0 \times 10^{-4} - 8,0 \times 10^{-3}$	-	$9,6 \times 10^{-5}$	-	95,3 - 101,0	1,7% (n=10)	95%	60 det h ⁻¹
WEINERT, et al., 2007a	510	$1,45 \times 10^{-6} - 2,90 \times 10^{-5}$	0,9999	$1,31 \times 10^{-7}$	$4,40 \times 10^{-7}$	97,3 - 103,0	2,0% (n = 20)	95%	72 amostra h ⁻¹
SUAREZ, et al., 2011	642	$0,99 \times 10^{-5} - 0,79 \times 10^{-3}$	0,9992	$0,79 \times 10^{-5}$	-	98,0 - 103,6	< 0,4% (n=10)	95%	80 det h ⁻¹

- Não Informado

3.3 Análise por Injeção em Fluxo

A crescente demanda nos laboratórios de análises químicas tem exigido da Química Analítica o desenvolvimento de métodos capazes de atender diversas exigências, tornando necessário o aperfeiçoamento/aprimoramento de métodos analíticos cada vez mais rápidos e precisos, sendo muitas vezes necessária sua mecanização e/ou automatização (FARIA, 1987).

Para controle, por exemplo, de medicamentos, diversos métodos que no passado eram adequados, hoje podem não mais atender as necessidades atuais. Tendo em vista o estabelecimento de novos limites para várias substâncias, às metodologias recomendadas anteriormente, podem não suprir as necessidades de análise recomendadas pelos órgãos de controle atuais. Além disso, atualmente, é interessante que a escolha de um método analítico considere, baixo consumo de reagentes e amostras, conseqüentemente, diminuição de resíduos gerados, alta frequência de amostragem - possibilitando análise de grande quantidade de amostras, alta sensibilidade, baixo limite de detecção, baixo custo, simplicidade, rapidez, a possibilidade de mecanização ou automatização e, também, a possibilidade de monitoramento *in situ* em tempo real, possibilitando o desenvolvimento de módulos de análise que possam ser transportadas ao campo (CÓRDOVA, 2008).

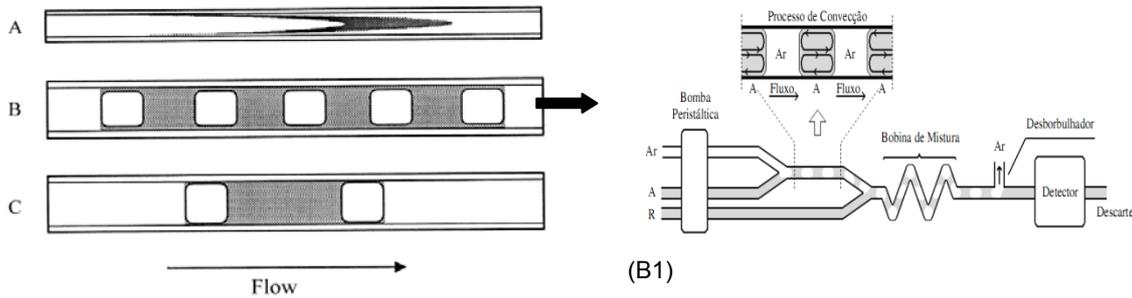
Nessa perspectiva, Schmidt Jr. (2009) e colaboradores ressaltam que os sistemas FIA têm sido utilizados principalmente almejando a mecanização de procedimentos analíticos (SOLICH, *et al.*, 2001), a fim de minimizar a intervenção do analista, aumentando o número de amostras processadas por tempo e melhorar a precisão dos resultados obtidos. Estes sistemas também mostram um grande potencial para o desenvolvimento de procedimentos analíticos aliados aos descritos pela química verde, onde a produção de resíduos é reduzida quando comparada com metodologias clássicas como titrimetrias.

3.3.1 Histórico da Técnica

O uso dos Métodos Mecanizado de Análises foi introduzido por Skeggs na década de 50, como maneira de substituir as operações realizadas manualmente por um analista. A mecanização desenvolvida por Skeggs foi denominada de Análise de Fluxo Segmentado, cuja sigla - SFA (do inglês, Segmented Flow Analysis), que foi muito usado na década de 60, para análises clínicas (PALGROSSI, *et al.*, 2001) (SKOOG, 2002) (AMORIM, 2010).

Karlberg e Pacey (1989) ressaltam que os segmentos de ar criam espaços como “paredes” entre as alíquotas da amostra dentro dos tubos, assim, a solução se arrasta contra as paredes surgindo à necessidade de mistura e convecção. O ponto importante sobre os sistemas segmentados de fluxo contínuo contra FIA é que as bolhas de ar são usadas para limitar a dispersão, conforme pode-se verificar através da Figura 06.

Figura 06 – Perfis de amostra: A) Sistema de injeção em fluxo; B) Sistema multisegmentado, B1) Diagrama esquemático da técnica de análise por fluxo segmentado; C) Sistema monosegmentado.



(B1)

Legenda: A=Amostra; R=reagente;

FONTE: GONSALVES, 2008.

FONTE: PASQUINI, 1999.

Com o aprimoramento do processo de fluxo segmentado, surgiu na primavera de 1974, a análise em fluxo contínuo não-segmentado (HANSEN, 2008)(TROJANOWICZ, 2008), que foi a denominação inicial para a técnica que viria a ser denominada de Análise por Injeção em Fluxo - FIA, sigla oriunda do termo em inglês - “Flow Injection Analysis” (SKOOG, 2002) (REIS, 1996), nome conhecido até os dias atuais.

A técnica de FIA foi desenvolvida por Jaromír Ruzicka e Elo Hansen, na Dinamarca, ao utilizarem uma seringa hipodérmica para injetar amostras no circuito hidráulico que conduzia ao detector (PALGROSSI, *et al.*, 2001) (SKOOG, *et al.*, 2002).

Segundo Ruzicka, o experimento inicial baseava-se em um teste simples envolvendo a injeção de um volume bem definido de uma amostra em um fluxo transportador de fluxo contínuo não segmentado (Figura 07a). Sendo que para surpresa, os picos de resposta foram bem definidos e a frequência de amostragem foi muito maior do que o que era possível por auto-analisadores, desenvolvidos por Skeegs. Ruzicka e Hansen perceberam, então, que haviam descoberto algo importante (GRUDPAN, *et al.*, 2011).

O primeiro artigo tratando e apresentando a análise por injeção em fluxo foi publicado em 1975, chamado de Flow injection analyses: Part I. A new concept of fast continuous flow analysis (MCKELVIE, 2008) (RUZICKA; HANSEN, 2008). Tempo depois, junto com pesquisadores/amigos brasileiros, publicaram os primeiros dez artigos a respeito do novo processo, antes que a comunidade analítica tivesse prestado atenção a técnica até então desenvolvida (GRUDPAN, *et al.*, 2011).

Ressalta-se assim, que pesquisadores brasileiros – Henrique Bergamin Filho, Elias Ayres Guidetti Zagatto e Francisco José Krug, apresentaram grande contribuição para desenvolvimento dos sistemas FIA, isso porque, por volta de 1976, Ruzicka esteve no Brasil, e passou 1 ano assessorando a implantação do laboratório de Química Analítica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da USP (REIS, 1989) (REIS, 1996).

Penoni (2006) destaca que as modificações elaboradas por Ruzicka e Hansen foram muito profundas em relação ao processo segmentado, sendo as modificações principais relacionadas com a introdução da amostra por injeção e a ausência de segmentação por bolhas, tornando simples e versátil a instrumentação da análise por injeção em fluxo (GRUDPAN, *et al.*, 2011).

Ruzicka e Hansen (2008) refletem a respeito do desenvolvimento do sistema de FIA, afirmando que, naquela época, a principal preocupação era provar que a FIA apresentaria-se como uma alternativa viável e prática para as formas tradicionais de manipulação de solução no laboratório de análises. O desenvolvimento da Análise por Injeção em Fluxo, foi uma novidade, pois as leituras puderam se basear na altura do pico, obtido por uma zona de dispersão da amostra em um fluxo de reagente, formando um gradiente de concentração.

Atualmente, existem inúmeros estudos a respeito da análise por injeção em fluxo, que apontam para a grande versatilidade e aplicabilidade da técnica, possibilitando seu uso em amplos ensaios analíticos, como: pesquisa agrícola, ambiental, farmacologia, bioquímica, biologia, entre outras. Sendo possível, ainda, associar facilmente as técnicas FIA aos avanços tecnológicos (como os detectores de estado sólido, de fibra óptica e informatização), tornando FIA cada vez mais poderosa e mais adequada ferramenta para as aplicações analíticas.

3.3.2 Princípio da Técnica

A análise química através da injeção em fluxo contínuo é um processo que ocorre pela automatização de procedimentos analíticos, pelo qual, envolve a inserção/injeção de um volume discreto e bem conhecido de amostra (HANSEN; MIRÓ, 2007) em um fluido carregador (em um movimento unidirecional, não segmentado), também conhecido como solução transportadora ou fluxo reagente, que a transporta a amostra em direção ao detector. A solução transportadora pode ser uma solução reagente – fluxo/carregador reagente, ou um fluido quimicamente inerte em relação ao analito (REIS, *et al.*, 1993). Ressalta-se que neste movimento do fluxo, a amostra pode ser física e quimicamente transformada em uma espécie detectável, pois, durante o transporte a amostra pode receber reagentes, sofrer reações químicas e/ou passar por etapas de separação, provocando uma resposta do detector a jusante o ponto de injeção (REIS, 1989) (STADEN; STADEN, 2010) (LEITE, *et al.*, 2004). Uma característica muito importante no sistema FIA, se trata do módulo de análise ser um sistema fechado, pois a partir do momento que a amostra é inserida no percurso analítico, as reações químicas e a detecção ocorrem sem nenhum contato externo. Essa característica é importante quando o processo analítico gera uma espécie gasosa, evitando perda do analito ao ambiente (REIS, 1996).

Ainda durante o transporte ao detector, como a amostra entra em contato com a solução transportadora, ocorre uma dispersão da amostra, originando uma *zona de amostra reprodutível* (ZAGATTO, et al, 1993), caracterizando um gradiente de concentração (REIS, et al., 1993) (LEITE, et al., 2004). Devido à existência de gradientes de concentração e da medida ser feita com a zona de amostra em movimento em relação ao sistema de detecção e não apresentando, assim, um estado estacionário para leitura, obtém-se um sinal transiente, cuja altura pode ser relacionada à concentração da espécie de interesse (ROCHA, et al., 1999) (HANSEN; MIRÓ, 2007) (LEMONS, 2005).

Características físico-químicas das soluções, como viscosidade, e fatores hidrodinâmicos como, vazão, volume de amostra, comprimento e diâmetros dos tubos que compõem o percurso analítico, da alça de amostragem, influenciam no grau de dispersão de uma amostra, refletindo na magnitude e no formato do sinal gerado pelo detector (REIS, et al., 1993) (ROCHA, et al., 1999) (LEITE, et al., 2004).

Esse perfil de concentração ou gradiente de concentração da amostra, através da análise por injeção em fluxo, trouxe um novo conceito à química analítica, permitindo, assim, que qualquer ponto ao longo do gradiente possa ser usado como um potencial de leitura, explorando assim sinais em estágios transitórios da reação. Como resultado disto, a natureza cinética é uma das fundamentais propriedades do FIA. Devido à natureza inerentemente dinâmica da FIA, medições em muitos casos são realizados sob condições de não-equilíbrio, enquanto o sistema ainda está em sua fase cinética e, sendo portanto, corretamente classificado como um sistema cinético. Além da reação e/ou taxa de dispersão, aspectos cinéticos da FIA podem ser ainda mais explorados por incorporação nas estratégias de sistema que dependem do controle dos processos cinéticos, tais como catálise, stopped-flow (parada do fluxo), a taxa de absorção e dessorção, extração, separação, difusão de íons ou gases através das membranas ou reatores empacotados, e reações enzimáticas (STADEN; STADEN, 2010).

Assim, não apenas a análise por injeção em fluxo, mas também as suas novas formas, como, a injeção sequencial (SI) são baseados nos mesmos princípios, os padrões de mistura, a importância da formação de gradiente e a descrição matemática e física semelhante ao tratamento dos modelos de tanques-em-série (aplicados em reatores químicos) (RUZICKA; HANSEN, 2008).

Se todos os parâmetros críticos (injeção reprodutível, tempo de reação e dispersão controlada) forem mantidos dentro de níveis de tolerância, o resultado será reprodutível (STADEN; STADEN, 2010).

Depois do surgimento do FIA, novas técnicas/modalidades de sistemas de análise em fluxo, foram desenvolvidas (ROCHA, et al., 1999), como em 1990 a Análise por Injeção Sequencial – SIA (do inglês Sequential Injection Analysis), considerada a segunda geração

dos sistemas FIA (ECONOMOU, 2005)(MASINI, 2008). Além desse, aponta-se ainda o desenvolvimento da análise por injeção em fluxo multi-comutado (MCFIA - Multi-Commutation Flow Injection Analysis), a análise por injeção seqüencial com o uso de multi-seringa, entre outras (AMORIM, 2010) (FAJARDO, *et al.*, 2010).

3.3.3 Vantagens Técnica

A análise por injeção em fluxo, sistema de fluxo com ausência das bolhas trouxe diversas vantagens, dentre as quais se destacam:

- Não é necessário nenhum removedor de bolhas no sistema (KARLBERG; PACEY, 1989);
- A dispersão da amostra pode ser controlada no sistema (KARLBERG; PACEY, 1989);
- Amostra pode receber reagentes, sofrer diluições e passar por etapas de separação (LEITE, *et al.*, 2004);
- Maior frequência analítica, pois há uma maior velocidade de análises, podendo chegar a 300 amostras por hora (SKOOG, *et al.*, 2002) (LEITE, *et al.*, 2004) (SEMAAN, 1999);
- Melhor tempo de resposta no detector, sendo o tempo inferior a 1 minuto entre a injeção da amostra e o sinal no detector (SKOOG, *et al.*, 2002);
- Possibilita o baixo consumo de reagentes, bem como também de amostras (ATIEZA, *et al.*, 1992) (CLAUDIA; FRANCISCO, 2009), e conseqüente, redução de resíduos gerados por análise, sendo considerada uma ferramenta ambientalmente inofensiva (KAWAMURA, *et al.*, 2011);
- Diminuição da manipulação de reagentes e amostras do operador, favorecendo a redução de riscos a saúde do analista, dos erros associados aos procedimentos manuais e também, a redução de custo de mão-de-obra (GONSALVES, 2008); (LEITE, *et al.*, 2004);
- Proporcionam elevada reprodutibilidade e repetibilidade de resultados (KARLBERG; PACEY, 1989) (CERDÀ, *et al.*, 1999);
- Apresentam baixo custo de investimento e manutenção (CERDÀ, *et al.*, 1999), além disso, são extremamente versáteis, flexíveis e fácil de manusear (CLAUDIA; FRANCISCO, 2009), podem ser construídos para diferentes fins de utilização, permitindo, assim, que inúmeras modificações, como: diluição, pré-concentração e/ou etapas de separação, sejam incorporadas no sentido de viabilizar um melhor desenvolvimento analítico (KARLBERG; PACEY, 1989) (ROCHA, *et al.*, 1999) (GONSALVES, 2008). Além de possibilitar seu acoplamento com praticamente qualquer princípio de detecção (KAWAMURA, *et al.*, 2011);

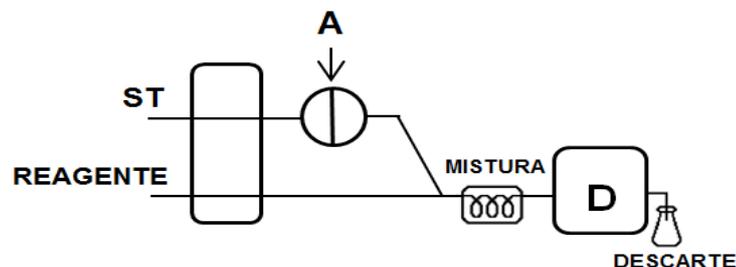
Por fim, ressalta-se que o desenvolvimento e a evolução da análise química através da injeção em fluxo constituiu-se em uma ferramenta importante na Química Analítica (PASQUINI, 1999), justamente por se fundamentar em um processo simples, de instrumentação de baixo custo, de fácil e cômoda operação e possibilidade de uma surpreendente rapidez, exatidão e precisão nos resultados almejados (LEMOS, 2005) e possibilita execução do trabalho utilizando baixo volume de amostra por análise (MAGALHÃES, *et al.*, 2009) (KAWAMURA, *et al.*, 2011).

3.3.4 Componentes da Análise por Injeção em Fluxo

Em sua versão mais simples, os sistemas de análise por injeção em fluxo - FIA, são formados por uma bomba peristáltica para impulsionar o fluxo transportador e os reagentes uma série de tubos para levar as soluções, um injetor para introduzir com precisão uma alíquota pré-definida da amostra, uma bobina de reação, onde a zona de amostra se dispersa formando as espécies químicas a serem monitoradas, quando necessário, um detector e um dispositivo para registrar o sinal analítico transiente gerado durante a passagem da amostra processada através do mesmo (ALVES, *et al.*, 2005) (RUIZ-MEDINA; LLORENT-MARTÍNEZ, 2010). Podendo-se assim resumir o processo de análise química por injeção em fluxo contínuo em quatro partes importantes essenciais, a propulsão dos fluidos (reagentes), injeção da amostra, reação e detecção (REIS, 1989).

Karlberg e Pacey (1989) apresentaram um diagrama esquemático de um típico e simples sistema de análise por injeção em fluxo de duas linhas (REIS, 1996), o qual é apresentado na Figura 07. Nesse sistema, uma linha transporta a amostra, cuja solução é denominada de solução transportadora (que inclusive pode ser somente água destilada) e a segunda linha contém a solução do reagente. Essas duas linhas convergem antes da bobina de mistura através de uma confluência, sendo encaminhado o segmento de amostra/reagente ao detector. Nesse caso, a amostra sofre dispersão desde sua injeção até o ponto de confluência onde a partir daí ocorre diluição após a confluência.

Figura 07 - Diagrama esquemático de um típico sistema FIA.



Legenda: ST = Solução Transportadora; A= Injeção da Amostra; D = Detector.

FONTE: KARLBERG; PACEY, 1989; ECONOMOU, 2005.

A seguir serão apresentados os componentes que compõe o sistema de Análise por Injeção em Fluxo utilizados para o desenvolvimento do modulo de análise proposto, ressaltando que os componentes descritos são dispositivos usados na maior parte dos trabalhos realizados com sistemas FIA.

a) Sistema de Transporte de Amostra e Reagente

Bomba de pistão ou seringa, propulsor a gás, fluxos eletro-osmótica ou gravitacional já foram propostas na literatura como alternativas de propulsão de amostra e fluxos carregadores, mas essas alternativas têm sido pouco exploradas em laboratórios dedicados à grande escala de análise de amostra (LAPA, *et al.*, 2002). As soluções impulsionadas por pistão ou seringa, revelam algumas limitações dependendo do modo que eles são utilizadas. Além disso, pistões ou seringas necessitam de interrompimento periódico para encher ou esvaziar a seringa, causando um tempo de espera que reduz o rendimento analítico.

As bombas peristálticas são os meios mais comuns de propulsão da amostra e dos fluxos transportadores/ou de reagentes. Elas são robustas, confiáveis, de dimensão considerável e capaz de acomodar vários canais (LAPA, *et al.*, 2002) (ARRUDA; COLLINS, 2005). A bomba peristáltica deve possuir torque suficiente para manter constante a vazão, mesmo diante de variações como – comprimento do percurso analítico, viscosidade das soluções, e aumento ou diminuição dos diâmetros internos da tubulação (REIS, 1989).

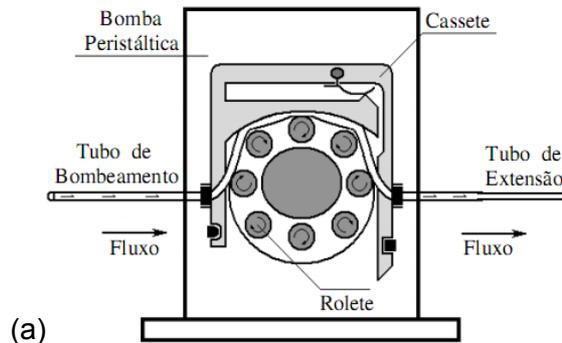
Assim, no sistema FIA, a amostra e soluções são comumente transportadas por meio de uma bomba peristáltica. Através da bomba peristáltica um fluido, que pode ser um líquido ou um gás, é bombeado, geralmente, através de tubos de polietileno (ou teflon) cilíndricos, com paredes de pequena espessura, concêntricas e de raios variáveis (SKOOG, 2002) (SEMAAN, 1999). Assim, a amostra é introduzida através de um sistema propulsor e processada sob condições reprodutíveis, permitindo o seu isolamento do ambiente, evitando contaminação externa (RUIZ-MEDINA; LLORENT-MARTÍNEZ, 2010).

O funcionamento da bomba peristáltica ocorre pela existência de molas para forçar os tubos contra dois ou mais roletes durante todo o tempo, forçando a movimentação de um fluido através da tubulação em um fluxo contínuo (SKOOG, 2006). A configuração de uma bomba peristáltica pode ser observada através da Figura 08 (a).

A vazão do sistema é controlada pela velocidade do motor da bomba peristáltica e pelo diâmetro interno do tubo (SKOOG, 2006).

O sistema proposto, no presente estudo, utilizou uma para impelir a amostra e reagente, uma bomba peristáltica com 8 roletes de 4 cassetes Figura 08 (a), com tubos de Tygon® com diâmetro de 1,3 mm. Conforme pode ser observado na Figura 08 (b), adiante.

Figura 08 - Ilustração/configuração de uma bomba peristáltica (a). Bomba peristáltica, cassete e tubos de propulsão utilizados no presente estudo (b)



FONTE: (a) GONSALVES, 2008.

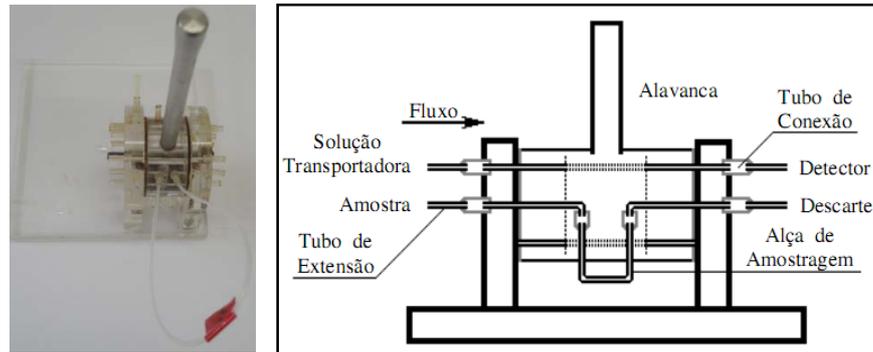
b) Injetor de Amostra e Reagente

No início do desenvolvimento do FIA a amostra era inserida ao fluxo carregador através de uma seringa hipodérmica, o que originou a técnica. Uma característica importante da técnica FIA é a possibilidade de automação dos processos de misturas, obtendo-se eficiência e reprodutibilidade, mesmo para pequenos volumes de amostra e reagentes (MERVARTOVÁ, *et al.*, 2007).

O injetor é peça fundamental no sistema FIA, pois além de introduzir a amostra no percurso analítico, pode ser utilizado para selecionar vazões do fluxo carregador e variar comprimento do percurso analítico (REIS, 1989). Para uma análise ser realmente bem sucedida, é de fundamental importância que a amostra seja injetada rapidamente como um pulso (SKOOG, 2002), além disso, a inserção da amostra não deve perturbar o fluxo do fluido de arraste. A injeção da amostra ocorre através de alças de amostragem quando uma amostra é introduzida na alça e a válvula gira 90°, sendo esta inserida no fluxo (SKOOG, 2006). Apesar de existirem diversos dispositivos disponíveis para inserir alíquotas de amostra no fluxo carregador, destaca-se o injetor proporcional devido sua simplicidade,

versatilidade (ROCHA, *et al.*, 1999) e por ter sido utilizado no presente estudo. Este injetor foi desenvolvido por pesquisadores do CENA, e consiste em três peças de acrílico, sendo duas fixas e uma móvel (REIS, 1989). Pode-se observar a configuração de um injetor a partir da Figura 09:

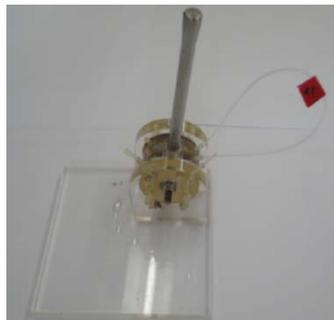
Figura 09 - Injetor-comutador manual de 6 vias e a ilustração de sua configuração.



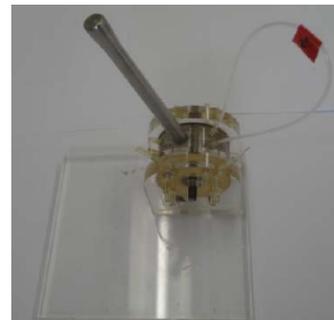
FONTE: GONSALVES, 2008

Em relação à alça de amostragem, o volume de amostra utilizado em cada determinação, é definido pelo comprimento da alça e o diâmetro interno do tubo utilizado, conforme observa-se através da Figura 10. Observa-se que aumentando o comprimento da alça de amostragem, aumenta-se o sinal gerado no detector, no entanto, esse sinal tende a um limite máximo, que corresponde à mínima dispersão (REIS, 1989).

Figura 10 - Injetor-comutador utilizado no presente estudo.



Preenchimento da Alça de Amostragem



Injeção da amostra no sistema

c) Utensílios Importantes e utilizados no estudo: Confluência e Bobina de Mistura

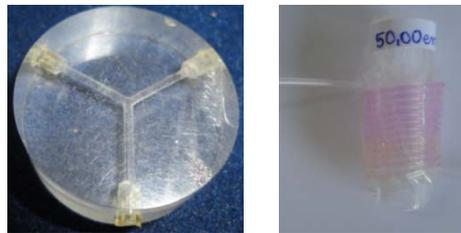
No sistema FIA, com mais de uma linha, a adição de reagentes pode ocorrer pela utilização de confluência (Figura 11 (a)) (MASINI, 2008), assim, o reagente que é adicionado por confluência, após o injetor possibilita que a amostra receba quantidade igual de reagente (REIS, 1989).

Segundo Coelho e colaboradores (2006) os sistemas FIA sofrem dispersão (processo físico-químico), causada principalmente devido à vazão do carregador, comprimento do

percurso analítico, bobina de reação e volume de amostragem. A alça de amostragem já foi apresentada na seção anterior, assim, a seguir trata-se da bobina de mistura.

Existem vários tipos de reatores e dispositivos de mistura, conhecido como, bobina de mistura. Mas, a bobina de mistura utilizada no presente estudo, se caracteriza por ser um reator helicoidal (figura 11 (b)), no qual um tubo é enrolado em um suporte, para melhorar a homogeneização radial em fluxos não-segmentados, favorecendo as condições de mistura entre o analito e o reagente. Essa movimentação circular entre o centro do tubo e as paredes, perpendicular a direção do fluxo é decorrente da força centrífuga. O grau de mistura depende da razão entre o diâmetro de enrolamento e o diâmetro interno do tubo (ZAGATTO, *et al.*, 1999).

Figura 11 – Confluência (a) e bobina de mistura (b) utilizados no presente estudo.



Confluência (a) Bobina de Mistura (b)

d) Célula de Fluxo e Detector

A célula de fluxo fotométrica ou como também é conhecido, compartimento de amostra, é um dispositivo, onde o analito é monitorado. Este utensílio fica inserido entre a fonte de radiação UV/Vis monocromática e um sensor fotoelétrico. A célula possui, entre a fonte de radiação e o transdutor, janelas que podem ser de vidro ou acrílico, quando a radiação incidente é na região do visível, e de quartzo, quando a radiação é na região do ultravioleta (ARAÚJO, *et al.*, 1996).

Detector é um dispositivo responsável pela conversão do sinal eletromagnético em pulso elétrico (dispositivo fotoelétrico - transdutor). Diversos detectores já foram acoplados ao sistema FIA, como: espectrofotômetro de UV/Vis, espectrofotômetro de absorção atômica, potenciômetros, condutivímetros, espectrômetro de emissão com plasma (REIS, 1989).

O processamento de sinal é uma parte importante em sistemas FIA e o perfil e a qualidade do sinal obtido pode influenciar acentuadamente no desempenho de um analisador (ARRUDA; COLLINS, 2005).

No presente estudo utilizou-se como detector um espectrofotômetro UV/Vis, conforme apresentado na Figura 12.

Figura 12 - Célula de fluxo e detector utilizados no presente estudo.



Célula de Fluxo



Espectrofotômetro UV/Vis

3.4 Metodologias Químicas Utilizadas

Para a quantificação da dipirona, que é o foco deste estudo, foram utilizadas a metodologia descrita na Farmacopéia Brasileira (2010) – Método Oficial, o Método Adaptado da metodologia oficial (PESTANA, *et al.*, 2008) e o Método Proposto.

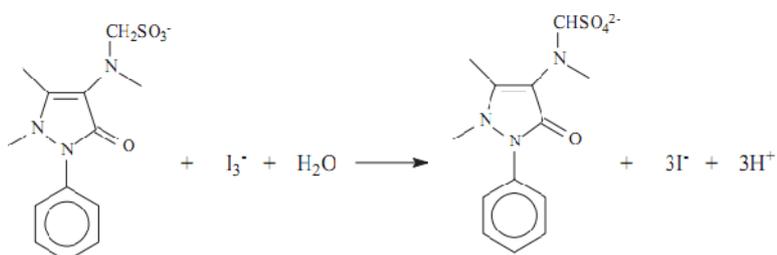
3.4.1 Metodologia Oficial

A metodologia oficial descrita na Farmacopéia Brasileira (2010) recomenda a realização de uma reação de oxirredução.

A quantificação da dipirona – matéria-prima e medicamentos (comprimidos e solução oral) foi realizada através da volumetria de oxirredução direta deste fármaco com iodo (iodimetria), na presença de ácido acético, em baixa temperatura, utilizando como indicador uma solução de amido.

A reação entre o íon tri-iodeto e a dipirona é apresentada na Figura 13:

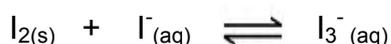
Figura 13 - Reação entre a dipirona e o iodo, através da reação de oxidação-redução.



FONTE: MARCOLINO-Jr., *et al.*, 2005.

3.4.1.1 Iodo

O iodo tem baixa solubilidade em água, além disso, o I_2 possui elevada pressão de vapor, ocorrendo possíveis perdas por sublimação durante sua manipulação, tornando o uso desse reagente um tanto limitado. Contudo, esses problemas são contornados dissolvendo-se o I_2 em uma solução aquosa de iodeto de potássio (KI). Baseando-se no Princípio de Le Chatelier, a solubilidade do iodo aumenta proporcionalmente à medida que iodeto está presente na solução aquosa, isso ocorre, justamente, pela formação do íon triiodeto (VOGEL, 2002).



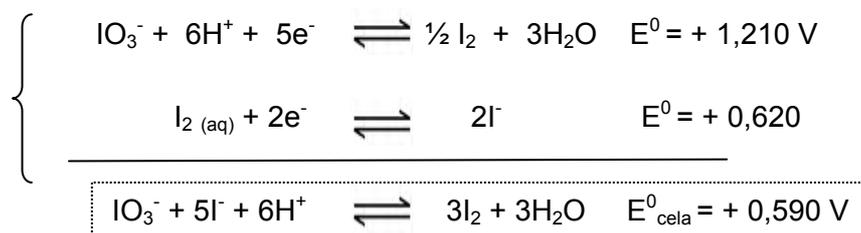
Dessa forma, pelo exposto anteriormente, uma solução de iodo não é considerada um padrão primário, logo a concentração da solução não pode ser determinada com exatidão através de simples pesagem. Essa solução deve então ser padronizada contra um padrão primário através da titulação de um volume conveniente da solução de iodo com um padrão primário (VOGEL, 2002). A Farmacopéia Brasileira (2010) descreve a padronização da solução de iodo $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando trióxido de arsênio (As_2O_3) como padrão primário.

Contudo, a toxicidade do arsênico torna esse procedimento um fator ambiental/ocupacional restritivo, preferindo-se utilizar uma solução padronizada de tiosulfato de sódio. Embora esse procedimento seja mais trabalhoso, ele é plenamente justificável do ponto de vista dos benefícios ao meio ambiente e/ou ocupacional quando comparado com o manuseio e uso de soluções de trióxido de arsênio.

3.4.1.2 Tiosulfato de Sódio

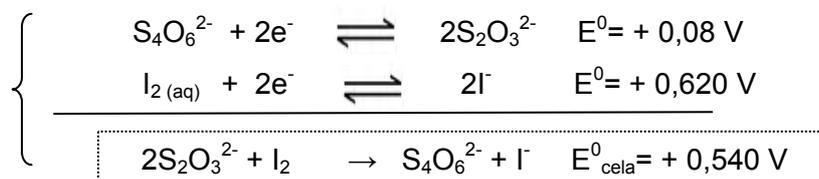
O tiosulfato de sódio pode ser obtido com elevada pureza, mas esse não é o único fator a ser considerado em um padrão primário, assim, características como, não apresentar confiança quanto ao teor exato de água devido a natureza eflorescente do sal, garante ao $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ a classificação de um padrão secundário, necessitando de padronização (VOGEL, 2002). Assim, uma solução de tiosulfato de sódio deve ser padronizada utilizando-se um padrão primário, como o iodato de potássio, dicromato de potássio, entre outros, ou um padrão secundário, como o permanganato de potássio.

Nesse trabalho utilizou-se o Iodato de Potássio (KIO_3) como padrão primário para realizar a padronização da solução de tiosulfato de sódio. O IO_3^- reage com I^- em excesso em meio ácido liberando iodo *in-situ*, conforme se pode observar as reações abaixo.

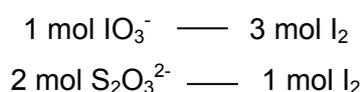


Destaca-se que a mistura de iodato e iodeto em uma solução neutra permanece incolor até a adição de um ácido, pois na presença do ácido, imediatamente observa-se uma coloração marrom-amarelada, típica da existência de iodo livre. O iodo liberado é então titulado com tiosulfato, utilizando-se uma solução de amido como indicador, até o descoramento da cor azul da solução (FREITAS, 2009).

A reação de padronização do tiosulfato de sódio com o iodato de potássio está baseada nas reações seguintes:



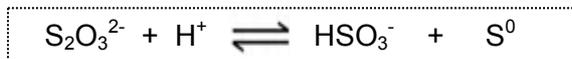
Assim, de acordo com as estequiometrias envolvidas, pode-se observar que,



Consequentemente,



Destaca-se ainda que para aumentar a conservação da solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ acrescentou-se carbonato de sódio ($0,1 \text{ g L}^{-1}$). O propósito da adição de carbonato de sódio é manter o pH da solução ligeiramente alcalino, pois em meio ácido, o tiosulfato de sódio se desproporciona, formando enxofre elementar na forma coloidal (HARRIS, 2011), conforme a reação abaixo:

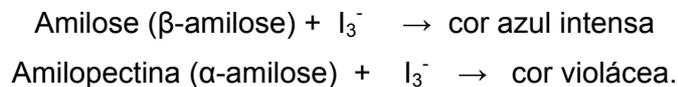


3.4.1.3 Amido

A metodologia oficial para determinação de dipirona descrita na Farmacopéia Brasileira, bem como o método adaptado (destacado no tópico seguinte) executado neste estudo, utiliza o amido como indicador.

O amido é comumente utilizado como indicador em reações que utilizam o iodo (I_2), isso porque o amido e o iodo formam um complexo azul intenso. Ressalta-se, no entanto, que o amido não é um indicador redox – que muda de coloração ao passar do estado oxidado para reduzido, pois o amido é específico á presença de iodo e não a uma modificação do potencial redox. A goma de amido é facilmente biodegradada, assim deve ser preparada próxima ao momento de uso. O amido quando hidrolisado gera a glicose como produto, que é um agente redutor. Uma solução parcialmente hidrolisada de amido pode ser uma fonte de erros em uma titulação de oxidação-redução (HARRIS, 2008).

O amido é formado, principalmente, por dois constituintes, a amilose (β -amilose) e o amilopectina (α -amilose). Estes constituintes do amido formam complexos com o iodo, na forma de íons I_3^- , garantindo à solução a coloração azul intensa, pois (BACCAN, *et al.*, 2001)



Suspensões aquosas de amido quando não acondicionadas convenientemente, decompõem-se em poucos dias, principalmente, devido à ação bacteriana. Os produtos da sua decomposição tendem a interferir nas propriedades do indicador e podem ser oxidados pelo iodo. A ação bacteriana na decomposição de uma suspensão de amido pode ser inibida pela adição de iodeto de mercúrio (II) ou clorofórmio como bactericidas (BACCAN, *et al.*, 2001) (SKOOG, 2006).

O amido sofre decomposição, irreversivelmente, na presença de elevada concentração de iodo. Assim, em titulações do excesso de I_2 com $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$, a adição do indicador - amido, deve ser protelada até que a cor da solução mude de vermelho-marrom, para amarelo, pois nesse ponto, a maior parte do I_2 foi reduzido, ou seja, a titulação está quase completa (SKOOG, 2006).

3.4.2 Metodologia Adaptada descrita na Literatura (PESTANA, *et al.*, 2008)

A metodologia adaptada proposta por Pestana e colaboradores (2008) baseia-se na oxidação quantitativa da dipirona ($C_{13}H_{16}N_3NaO_4S \cdot H_2O$) pelo iodo formado *in situ* pela reação do iodato de potássio com excesso de iodeto de potássio em meio ácido e temperatura abaixo de 10 °C.

3.4.3 Metodologia Proposta

O presente estudo baseia-se na interação química entre o $KMnO_4$ e a dipirona em meio ácido. Os íons permanganato (MnO_4^-), que apresentam coloração violeta, são reduzidos a íons manganoso (Mn^{2+}), que são incolores, diante da presença da dipirona, que possui um grupo metanossulfônico (SO_3)²⁻, o qual age como redutor. Esse descolorimento é medido espectrofotometricamente em 545 nm.

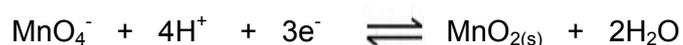
3.4.3.1 Permanganato de Potássio

O permanganato de potássio é um sal inorgânico, formado pelos íons potássio (K^+) e permanganato (MnO_4^-), tendo fórmula molecular $KMnO_4$, massa molar de 158,034 g/mol. O manganês (VII) é um forte agente oxidante, apresentando-se com uma coloração violeta bastante intensa, tanto como sólido como em solução aquosa (HARRIS, 2008). Além disso, é muito utilizado para oxidação de espécies orgânicas e inorgânicas em diferentes meios, ácido, neutro e alcalino. Sua redução produz invariavelmente Mn(II), tendo a produção de Mn(VI), Mn(V), Mn(IV), e Mn(III) como intermediários. A estabilidade e a cor destas espécies supracitadas dependem do pH das soluções de trabalho, bem como da natureza dos agentes redutores (KHAN, *et al.*, 2010).

Em soluções fortemente ácidas ($pH \leq 1$), e na presença de uma espécie redutora, o $KMnO_4$ é reduzido ao íon manganoso (Mn^{2+}) que é incolor (HARRIS, 2008).

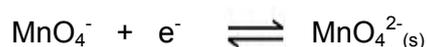


Em um meio fracamente ácido, meio alcalino ou neutro, uma solução de Mn(VII) se transforma em Mn(IV), um sólido marrom, denominado dióxido de manganês (MnO_2). Em vários estudos observou-se que para formação de $MnO_2(s)$, ocorreu a formação de intermediários como $H_2MnO_4^{2-}$, H_2MnO_3 e colóides de MnO_2 (KHAN *et al.* 2010) (HARRIS, 2008) (HARGIS, 1988).



Khan e colaboradores (2010) apresentam e discutem a formação de nanopartículas de MnO_2 pela oxidação do íon permanganato na presença de quatro aminoácidos (glicina, alanina, metionina e cisteína). O dióxido de manganês é uma substância marrom e insolúvel em água sendo um dos materiais inorgânicos mais atraentes, pois possui vastas aplicações, como: utilização em peneiras moleculares, catálise, construção de biossensores e principalmente de armazenamento de energia, mas também devido ao seu baixo custo e ser ambientalmente benigna. Há um reconhecimento geral de que seu desempenho é altamente dependente em sua morfologia, bem como de sua forma cristalográfica. Há uma variedade de estratégias para síntese e preparação de MnO_2 na forma coloidal e/ou nanopartículas (KHAN, *et al.*, 2010).

Em meio fortemente alcalino, a redução de $KMnO_4$, produz o íon manganato (MnO_4^{2-}), de coloração verde (HARRIS, 2008).



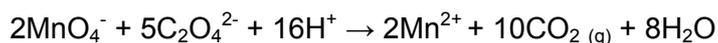
Soluções de permanganato são pouco estáveis, justamente devido à possibilidade dos íons MnO_4^- causarem a oxidação da água. Felizmente, esse processo é lento quando na ausência do catalisador. Dentre os catalizadores, pode-se citar: Mn^{2+} , calor (HARRIS, 2001), ou ainda o MnO_2 , que pode transformar a reação em autocatálise, pois no decorrer da reação, mais catalizador é produzido, que atua no aumento do favorecimento na taxa de decomposição.



Além disso, a reação acima apresentada pode ser catalizada pela luz, processo denominado de decomposição fotolítica (HARGIS, 1988). Assim, a solução de KMnO_4 deve ser armazenada em frasco de vidro âmbar (HARRIS, 2001). Diante da fácil decomposição das soluções de permanganato de potássio, este não é um padrão primário. Sendo a solução de KMnO_4 , frequentemente, padronizada para realização de um trabalho mais preciso (HARRIS, 2001).

3.4.3.2 Oxalato de Sódio

O oxalato de sódio é um padrão primário utilizado para padronizar, á quente, uma solução de KMnO_4 . O íon oxalato em meio ácido é convertido em ácido não dissociado, sendo a reação apresentada a seguir, (SKOOG, 2006):



3.5 Validação Analítica

Quando se desenvolve um novo método para quantificação de um determinado analito, este deve ser avaliado por uma série de parâmetros já estudados a partir de outro procedimento de referência. O principal objetivo de tal comparação é a identificação dos erros sistemáticos entre os resultados obtidos com o método novo e os obtidos com o método de referência (MILLER; MILLER, 2005).

Para garantir que um novo método analítico gere resultados confiáveis e interpretáveis sobre a amostra, ele deve sofrer uma avaliação denominada validação (RIBANI, *et al.*, 2004) (VALENTINI, *et al.*, 2007).

Segundo a ANVISA (2003a), o objetivo de uma validação é demonstrar que o método novo é apropriado para a finalidade pretendida, ou seja, a determinação qualitativa, semi-quantitativa e/ou quantitativa de fármacos e outras substâncias em produtos farmacêuticos.

A validação deve garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Para tanto, deve apresentar especificidade e/ou seletividade, linearidade, intervalo, precisão, sensibilidade, limite de quantificação, exatidão, adequados à análise (ANVISA, 2003a).

O método foi validado segundo os parâmetros de seletividade - recuperação de padrão, linearidade, precisão, exatidão, repetibilidade, limite de detecção e quantificação.

3.5.1 Seletividade

A seletividade ou especificidade deve ser o primeiro passo para o desenvolvimento e validação de um novo método analítico, sendo que este parâmetro deve ser reavaliado continuamente durante a validação e o uso do método, pois, se a especificidade não for assegurada, demais parâmetros como: linearidade, exatidão e precisão estarão seriamente comprometidos (SILVA, *et al.*, 2010). Um método que produz respostas confiáveis para vários analitos, mas que pode distinguir a resposta de um analito da resposta de outros, é denominado seletivo (INMETRO, 2011).

A seletividade de um método se refere à capacidade de determinar de forma inequívoca analito(s) específico(s) numa mistura complexa, sem interferência dos outros componentes na mistura (ANVISA, 2005a) (ICH, 2005).

Assim, pode-se definir a seletividade como sendo a capacidade que o método possui de medir exatamente um composto em presença de outros componentes tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz (ANVISA, 2003a).

No presente estudo, a seletividade foi avaliada através do teste de adição e recuperação de padrão, no qual concentrações conhecidas, de pelo menos em três níveis

diferentes, do analito de interesse são inseridas nas amostras. Assim, pode-se obter um resultado para amostra e outros resultados relacionados aos valores adicionados do padrão sobre a resposta analítica da amostra, considerando, então, a amostra como um branco (LEITE, 2002). Este pode ser utilizado em situações quando: não é possível obter a matriz isenta do analito; há matrizes muito complexas; quando há fortes interações entre o analito e a matriz e/ou quando é difícil encontrar um padrão interno adequado. Assim, este teste consiste na adição de diferentes concentrações do analito à matriz, que já contém uma quantidade desconhecida do mesmo (CASSIANO, *et al.*, 2009).

Leite (2002) ressalta ainda que a avaliação da adição e recuperação de padrão garante uma eficiência do método, pois possibilita que o analito seja analisado em sua totalidade de sua massa existente na amostra.

A recuperação é uma medida da eficiência do processo de isolamento do analito de interesse da matriz na qual se encontra presente. Na maioria dos procedimentos analíticos de validação, valores de recuperação dentro da faixa 70 - 120% são aceitos (VAZ, *et al.*, 2007).

3.5.2 Linearidade

A Linearidade corresponde à capacidade do método analítico em gerar resultados que sejam diretamente proporcionais, ou por uma transformação matemática bem definida, a quantidade do analito em um determinado intervalo de concentração (SILVA, 2009) (ESTEVES, *et al.*, 2007) (PEREIRA, *et al.*, 2007) (BARROS, 2002).

Essa relação matemática para avaliar se o método é linear, está relacionada à estimativa dos coeficientes de uma curva analítica, a partir de um conjunto de medições experimentais podendo ser efetuada usando o método matemático de regressão linear (método dos mínimos quadrados). Além dos coeficientes de regressão – coeficiente angular e linear, a partir dos pontos experimentais também pode-se calcular, o coeficiente de correlação (r). Sendo que este (r) possibilita estimar a qualidade da curva obtida, pois quanto mais próximo de 1,0, menor a dispersão do conjunto de pontos experimentais e menor a incerteza dos coeficientes de regressão estimados. No entanto, um coeficiente de correlação maior que 0,999 já pode ser considerado como evidência de um ajuste ideal dos dados para a linha de regressão (RIBANI, *et al.*, 2004) (LEITE, 2004).

A relação entre o sinal medido (absorbância) e a concentração do analito, só é válida para o intervalo correspondente à faixa linear da curva analítica (VAZ, *et al.*, 2007) (GUILHEN, *et al.*, 2010). A faixa linear de detecção para obedecer a Lei de Beer depende da concentração do analito, do cromóforo e do percurso óptico (GOUVEIA, *et al.*, 2009).

A ANVISA (2005) recomenda que a linearidade seja determinada pela análise de, no mínimo, 5 concentrações diferentes e que o valor mínimo aceitável para o coeficiente de correlação (r) seja de 0,99.

3.5.3 Precisão

A precisão de um método está relacionada à concordância dos valores entre si, ou seja, a precisão revela a dispersão dos valores medidos em torno de um valor médio. Assim, quanto maior a dispersão das medidas, menor a precisão do método (SEBBEN, *et al.*, 2010) (BACCAN, *et al.*, 2001).

O valor numérico da precisão é estimado pelo desvio padrão relativo, ou DPR, para análises de amostras contendo a mesma quantidade das espécies de interesse. O DPR é ainda conhecido como CV (coeficiente de variação), ou ainda pela sigla RSD proveniente do inglês “relative standard deviation” (RIBEIRO, *et al.*, 2008).

A precisão de um método pode ser avaliada em três níveis, através da (ANVISA, 2005) (SANTANA, *et al.*, 2007):

- Repetibilidade (precisão intra-corrída) que corresponde à concordância entre os resultados dentro de um curto período de tempo com o mesmo analista e mesma instrumentação.
- Precisão intermediária (precisão inter-corrídas) corresponde à concordância entre os resultados do mesmo laboratório, mas obtidos em dias diferentes, com analistas diferentes e/ou equipamentos diferentes.
- E a reprodutibilidade (precisão inter-laboratorial) que consiste na concordância entre os resultados obtidos em laboratórios diferentes como em estudos colaborativos, geralmente aplicados à padronização de metodologia analítica, por exemplo, para inclusão de metodologia em farmacopéias.

No presente estudo a precisão do método proposto foi avaliada através da realização do teste F – no qual se compara as precisões entre dois conjuntos de dados através do uso da variância (o quadrado da estimativa do desvio-padrão) (LEITE, 2004) e através da avaliação da **repetitividade** (precisão intra-corrída) dos resultados.

3.5.3.1 Repetitividade

A repetitividade corresponde à concordância entre os resultados obtidos dentro de um curto período de tempo, através da realização do procedimento com o mesmo analista e mesma instrumentação (GRAEF, 2007).

No presente estudo, realizou-se a repetitividade (precisão intra-ensaio).

3.5.4 Exatidão

A exatidão de um método analítico está relacionado à proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo/proposto/desenvolvido, em relação ao valor considerado verdadeiro, obtido geralmente por um método de referência (SEBBEN, *et al.*, 2010) (GRAEF, 2007).

Os procedimentos rotineiramente usados para avaliar a exatidão de um método consistem na utilização de materiais de referência, comparação entre métodos e/ou realização de testes de adição e recuperação de padrão (SILVA, 2009) (RIBANI, *et al.*, 2004).

No presente estudo, a exatidão do Método Proposto foi avaliada através de uma ferramenta estatística, a realização do teste t pareado.

3.5.5 Limite de Detecção e Limite de Quantificação

O Limite de Detecção (LD) é definido como a menor concentração do analito (expresso em unidades de concentração C_{LD}) em uma amostra que o método analítico pode detectar/diferenciar/distinguir de forma aceitável do ruído de fundo de forma confiável, não sendo necessariamente quantificado. O Limite de Quantificação é definido como a menor concentração de analito/ padrão que pode ser quantificado/medido com aceitável precisão, exatidão e variabilidade, sob determinadas condições experimentais, apresentando com erro menor que 5% ($P = 95\%$) (LAWSON, 1994) (MOCAK, *et al.*, 1997) (SARKAR, *et al.*, 2006) (BARROS, 2002) (NT-003, SHIMADZU).

4 PARTE EXPERIMENTAL

Neste capítulo são apresentados todos os procedimentos experimentais realizados para alcançar os objetivos deste trabalho. A descrição será dividida em materiais e instrumentação, reagentes e soluções, metodologias (utilizadas na quantificação, preparo das amostras) e (montagem do sistema desenvolvido de análise química por injeção em fluxo para quantificação da dipirona).

4.1 Materiais e Instrumentação:

4.1.1 Materiais

- ❖ Vidrarias em geral
 - Becker, balão volumétrico, bureta, erlenmeyer, pipetas volumétricas, provetas, funil, Almofariz e Pistilo de porcelana;
- ❖ Tubos Falcon com volume de 15,0 e 50,0 mL;
- ❖ Pipetas automáticas Eppendorf® Reserch COM volumes VARIÁVEIS: 0-200 µL, 100-1000 µL e 200-5000 µL;
 - Ponteiras de pipetas Eppendorf;
- ❖ Papeis de filtro quantitativo – Quanty JP 41 - Cinza 0,007 - Ø12,5 cm;
- ❖ Espátulas de polietileno;
- ❖ Pipetas de Pasteur;
- ❖ Injetor manual em acrílico;
- ❖ Tubos de bombeamento em Tygon® de 1,30 mm de diâmetro interno;
- ❖ Tubos de extensão de polietileno 0,7 mm de diâmetro interno;
- ❖ Alças de Amostragem – tubos de polietileno de 0,7mm de diâmetro interno;
- ❖ Bobinas de mistura – tubos de polietileno de 0,7 mm de diâmetro interno, enrolados em espiral sobre suporte;
- ❖ Confluência de duas vias em acrílico;
- ❖ Cella de fluxo com percurso óptico com volume de 80 com paredes de vidro;
- ❖ Cassetes ISMATEC®.

4.1.2 Instrumentação:

- ❖ Balança Analítica BEL – Modelo: Mark 210A (precisão de 0,0001 g);
- ❖ Agitador Magnético com aquecimento IKA® (Modelo: RH Basic-KT/C)
- ❖ pHmetro MARTE® - Modelo: MB-10;
- ❖ Termômetro;
- ❖ Bomba peristáltica ISMATEC® de 4 canais (modelo: C.P. 78016 – 30) com 8 roletes;
- ❖ Espectrofotômetro FEMTO® UV/Vis - Modelo 600 S;

4.2 Reagentes e Soluções:

4.2.1 Reagentes

Todos os reagentes utilizados possuem elevado grau de pureza, de qualidade P.A. ou equivalente e estão apresentados na Tabela 05.

Tabela 05 - Reagentes utilizados para realização do presente estudo.

Reagente	Fórmula Molecular	Massa Molar (g/mol)	Descrição*	Característica Física*	Solubilidade*	Marca Utilizada
Ácido Acético	$C_2H_4O_2$	60,05	Líquido límpido, incolor, volátil, de odor irritante e característico.	Densidade = 1,05. Temperatura de ebulição ~ 18 °C.	-	Vetec
Ácido Clorídrico	HCl	36,46	Líquido límpido, incolor, fumegante, de odor irritante.	Densidade: ~ 1,18.	-	Vetec
Ácido Sulfúrico	H_2SO_4	98,07	Líquido incolor, cáustico, de consistência oleosa, muito higroscópico	Densidade = 1,84	-	Vetec
Amido Solúvel	$(C_6H_{10}O_5)_x$	-	Pó branco ou quase branco	-	-	Vetec
Iodato de potássio	KIO_3	214,00	Cristais brancos, inodoros, ou pó cristalino.	Temperatura de fusão, ~ 560 °C	Solúvel em água, insolúvel em etanol.	Vetec
Iodeto de Potássio	KI	166,00	Cristais incoloros, ou pó cristalino branco, inodoro, de sabor salgado e amargo. Fracamente deliquescente.	Temperatura de fusão: 680 °C.	Muito solúvel em água, facilmente solúvel em glicerol, solúvel em etanol.	Merck
Iodo	I_2	253,81	Escamas, placas ou cristais pequenos, preto azulados ou violeta acinzentados; brilho metálico, de odor irritante	Sublima lentamente à temperatura ambiente; aquecido, libera vapores violeta. Temperatura de fusão: 113,6 °C	Muito pouco solúvel em água, solúvel em etanol e pouco solúvel em glicerol.	Vetec
Oxalato de Sódio	$Na_2C_2O_4$	134,00	Pó cristalino branco ou quase branco.	-	Solúvel em água e praticamente insolúvel em etanol.	Vetec
Permanganato de Potássio	$KMnO_4$	158,03	Cristais violeta escuros, com brilho metálico, inodoros, de sabor adocicado, adstringente	-	Solúvel em água fria e facilmente solúvel em água fervendo	Vetec
Tioissulfato de Sódio	$Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$	248,19	Cristais incoloros, ou pó cristalino branco, facilmente eforescentes, de sabor fracamente amargo.	Temperatura de fusão ~ 48 °C. Dissolve-se em sua própria água de cristalização a temperatura ~ 49°C.	Muito solúvel em água, praticamente insolúvel em etanol.	Vetec

* FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010

4.2.2 Soluções – Descrição de Preparo e Padronizações

Para a preparação de todas as soluções foi utilizada água destilada e em alguns casos, a água foi previamente resfriada (~ abaixo de 15°C) ou fervida e resfriada a temperatura ambiente. Os procedimentos referentes à preparação das soluções e padronização das que necessitaram, são descritos a seguir:

4.2.2.1 Metodologia Oficial descrita pela Farmacopéia Brasileira

- **Solução de Amido SI – Amido 2,0 % (m/v)**

Dissolveu-se 2,00 g (\pm 0,01 g) de Amido Solúvel em 100,0 mL de água destilada previamente aquecida. A solução apresentou pequena opalescência.

- **Solução de Amido 0,1% (m/v) com iodeto de potássio 2,0 % (m/v)**

Em um becker de 200 mL misturou-se cerca de 0,1 g de amido solúvel em um pouco de água destilada, formando uma pasta, em seguida, transferiu-se aproximadamente 100 mL de água destilada em ebulição. Ferveu-se a solução por 1 minuto sob agitação constante. Deixou-se a solução em repouso para esfriar e adicionou-se 2,0 g de iodeto de potássio e dissolveu-se o sólido (VOGEL, 2002).

- **Solução de Ácido Acético 6% (v/v)**

Diluiu-se 6,0 mL do Ácido Acético Glacial ($d = 1,05 \text{ g mL}^{-1}$; 99 % em massa) em água destilada completando-se o volume com água destilada para 100,00 mL.

- **Preparação e Padronização da Solução de Tiosulfato de sódio 0,1 mol L⁻¹**

Pesou-se, aproximadamente 6,2014 g de cristais de tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), dissolveu-se em água destilada e completou-se o volume para 250 mL em balão volumétrico com água destilada previamente fervida e resfriada.

A solução foi estocada em frasco âmbar evitando-se exposição à luz, para não acelerar sua decomposição, além disso, ressalta-se que a solução preparada foi utilizada no mesmo dia.

- **Padronização do Tiosulfato de Sódio com Iodato de Potássio (Padrão Primário)**

Em um béquer de 50,0 mL, pesou-se 0,04 g (\pm 0,01 g) de KIO_3 puro e previamente dessecado em estufa pelo período de 2 horas à 80 °C, transferiu-se quantitativamente para um erlenmeyer de 250 mL e dissolveu-se o sólido em água destilada fria (~ 30,0 mL),

recentemente fervida e resfriada. Adicionou-se ao erlenmeyer 2,0 g de iodeto de potássio (KI) isento de iodato de potássio e 5,0 mL de ácido sulfúrico 1,0 mol L⁻¹.

Assim, a titulação foi iniciada entre o iodo gerado *in situ* com a solução de tiosulfato de sódio, sob agitação constante e em banho de gelo para evitar perda de I₂ por volatilização. Ao passar o líquido para amarelo pálido, adicionou-se 2,0 mL de solução de amido SI e continua-se a titulação, até que possa ser observada a descoloração permanente do azul (VOGEL, 2002).

- **Preparação e Padronização da Solução de Iodo 0,05 mol L⁻¹ SV**

Dissolveu-se 13,00 g (± 0,01 g) de iodo em uma solução de iodeto de potássio 20 % (m/v) previamente preparada, adicionou-se três gotas de HCl concentrado (d= 1,19 g mL⁻¹; 37% em massa), em seguida, completou-se o volume da solução com água destilada previamente fervida e resfriada para 1000mL em um balão volumétrico.

A solução foi conservada em frasco âmbar, bem fechado, e protegida da luz. Utilizou-se a solução no mesmo dia de preparo.

Para a padronização da solução de I₂, adicionou-se a solução recém-preparada de Na₂S₂O₃.5H₂O em uma bureta de 25,00 mL, em seguida, transferiu-se 10,00 mL da solução de iodo a ser padronizada para um erlenmeyer de 250 mL. Iniciou-se a titulação até o aparecimento da coloração amarelo pálida e, em seguida, adicionou-se 2,0 mL de solução de amido 0,1 % (m/v) e continuou-se a adição lenta da solução de tiosulfato de sódio até que a solução tenha sido descorada. Repetiu-se o procedimento em quintuplicata.

4.2.2.2 Metodologia Adaptada descrita na Literatura

- **Solução de Iodato de Potássio 0,015 mol L⁻¹**

Pesou-se exatamente, 1,6051 g de KIO₃, dissolveu em água e completou-se o volume para 500,00 mL com o mesmo solvente. Não foi necessária a padronização, pois este reagente é padrão primário.

- **Solução de Ácido Sulfúrico 10% (v/v)**

Diluiu-se, aproximadamente, 25,00 mL do H₂SO₄ concentrado (d = 1,84 g mL⁻¹; 95-99% em massa) em água destilada completando o volume de 250,00 mL.

- **Solução de Amido SI**

Conforme descrito no item 4.2.2.1.

4.2.2.3 Metodologia Proposta

- **Soluções de Dipirona**

As soluções de dipirona (padrão) nas diversas concentrações utilizadas, foram preparadas, no dia de seu uso, a partir de uma solução estoque de 500 mg L^{-1} . Essa solução estoque de dipirona 500 mg L^{-1} foi preparada, pesando-se $0,05 \text{ g}$ de padrão (VALDEQUIMICA, Lote: 200906062) em um becker, dissolvendo-se no próprio becker com água destilada (ou solução de ácido sulfúrico, dependendo do uso) e transferindo-se para um balão volumétrico de $100,00 \text{ mL}$, o qual teve seu volume completado com o solvente utilizado.

- **Solução de Permanganato de Potássio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$**

Inicialmente, mediu-se o volume de H_2SO_4 concentrado ($d= 1,84 \text{ g mL}^{-1}$; 95-99% em massa), necessário para preparar uma solução ($250,0 \text{ mL}$) de ácido sulfúrico $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, adicionou-se ao balão volumétrico de 250 mL (que continha um pouco de água destilada). Lavou-se um frasco âmbar de 250 mL com a própria solução, descartando o resíduo. Em seguida, armazenou-se a solução.

Retirou-se uma alíquota da solução de ácido recém preparada e transferiu-se para outro balão volumétrico de 250 mL , visando preparar uma solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida, pesou-se, aproximadamente, $0,3951 \text{ g}$ de KMnO_4 e dissolveu-se no mesmo balão volumétrico de 250 mL que já se encontrava o ácido. Homogeneizou-se bem a solução, com o objetivo de dissolver todo o permanganato de potássio. Lavou-se um frasco âmbar de $250,0 \text{ mL}$ com a própria solução, descartando o resíduo. Em seguida, armazenou-se a solução no frasco escuro, protegido da ação da luz. Deixou-se a solução em repouso por, aproximadamente, 24 horas e, então, filtrou-se a solução em meio filtrante não redutor e padronizou-se a mesma contra uma solução de oxalato de sódio.

A partir da concentração real da solução de permanganato de potássio preparada, realizou-se uma diluição para prepara as soluções de KMnO_4 necessárias no estudo, principalmente, a solução de KMnO_4 $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$.

- **Padronização da Solução de KMnO_4 com Oxalato de Sódio (Padrão Primário)**

Pesou-se e anotou-se uma massa de aproximadamente $0,1000 \text{ g}$ de $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ seco ($105 \text{ }^\circ\text{C}$, 2h), transferiu-se quantitativamente para um erlenmeyer, dissolveu-se em $70 - 100 \text{ mL}$ de água destilada. Adicionou-se 8 mL de H_2SO_4 1:5 (v/v), e aqueceu-se a $80-90^\circ\text{C}$ e titulou-se com a solução de KMnO_4 preparada, até o aparecimento de coloração rosa persistente. Por fim, anotou-se o volume gasto de KMnO_4 para realização dos cálculos referentes a concentração real do permanganato de potássio.

Ressalta-se que no início da titulação, a reação entre o KMnO_4 e o $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ é lenta. No entanto, ao se formar uma pequena quantidade de Mn^{2+} a reação ocorre instantaneamente, pois conforme já visto, o íon manganoso catalisa a reação.

- **Solução de Ácido Sulfúrico (H_2SO_4) 1,0 mol L⁻¹**

Diluiu-se, aproximadamente, 6,00 mL do H_2SO_4 ($d=1,84 \text{ g mL}^{-1}$; 95-99% em massa) em água destilada completando o volume de 100,00 mL. A partir dessa solução, realizaram-se as diluições para obter as concentrações necessárias.

4.3 Preparação das Amostras e Metodologias Realizadas para Quantificação da Dipirona

As amostras (cápsulas, comprimidos e soluções orais) utilizadas no presente estudo basearam-se em medicamentos de referência, similares, genéricos e oriundos de farmácia de manipulação, comercializados em drogarias da cidade de Maceió/AL.

Dentre as amostra sólidas foram selecionadas, aleatoriamente, 20 cápsulas ou comprimidos, dependendo da origem, em seguida, foram pesados (as), pulverizados (as), e por fim, calculada as massas médias dos (as) comprimidos/cápsulas.

Para as amostras líquidas - soluções orais foram, inicialmente, estabelecidas sua densidade, através da medida, em balança analítica, da massa de um volume determinado, podendo assim, encontrar a densidade.

4.3.1 Metodologia Oficial descrita pela Farmacopéia Brasileira

Comprimidos

Pesou-se individualmente e pulverizou-se 20 comprimidos. Pesou-se a quantidade do pó equivalente a 0,35 g de dipirona ($\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{NaO}_4\text{S}\cdot\text{H}_2\text{O}$) e transferiu-se, quantitativamente, para um erlenmeyer. Adicionou-se 25 mL de água, 5 mL de ácido acético glacial e agitou-se até dispersão homogênea. Em seguida, filtrou-se a solução. Titulou-se com uma solução de iodo 0,05 mol L⁻¹ SV, em temperatura abaixo de 15 °C, utilizando 1 mL de amido SI, como indicador.

Cada mL de iodo 0,05 mol L⁻¹ SV equivale a 17,570 mg de $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{NaO}_4\text{S}\cdot\text{H}_2\text{O}$.

Soluções Orais

Transferiu-se um volume da solução oral correspondente a 2,5 g de $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S.H_2O$ para balão volumétrico de 100 mL. Completou-se o volume com água e agitou-se até dispersão homogênea. Transferiu-se 10 mL da solução para erlenmeyer, adicionou-se 50 mL de água, 5 mL de ácido acético glacial e homogeneizou-se a solução. Titulou-se com iodo $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ SV, em temperatura abaixo de $15 \text{ }^\circ\text{C}$, utilizando amido SI como indicador.

Cada mL de iodo $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ SV equivale a 17,570 mg de $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S.H_2O$.

Matéria Prima

Pesou-se a quantidade do pó do medicamento ou da matéria-prima, equivalente a 0,35 g de $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S.H_2O$ e transferiu-se, quantitativamente, para erlenmeyer. Adicionou-se 25 mL de água, 5 mL de ácido acético glacial e agitou-se até dispersão homogênea. A titulação foi iniciada utilizando-se uma solução de iodo $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ SV, em temperatura abaixo de $15 \text{ }^\circ\text{C}$, utilizando 1 mL de amido SI, como indicador.

Cada mL de iodo $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ SV equivale a 17,570 mg de $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S.H_2O$.

A relação de que cada 1 mL de I_2 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ SV equivale a 17,570 mg de $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S.H_2O$ pode ser facilmente observada quando se conhece a estequiometria da reação (ver tópico 3.4.1).

4.3.2 Metodologia adaptada descrita na literatura (PESTANA, et al., 2008)

Comprimido

Determinou-se o peso médio de 20 comprimidos que foram triturados até pó fino. Pesou-se uma quantidade de pó equivalente a, aproximadamente, 0,125 g de medicamento, transferiu-se essa massa para um erlenmeyer e adicionou-se 50 mL de água destilada resfriada abaixo de $10 \text{ }^\circ\text{C}$. Filtrou-se a solução. Em seguida, adicionou-se 5 mL de ácido sulfúrico 10% v/v e 1 g de iodeto de potássio. Agitou-se a solução utilizando-se agitador magnético e em banho de gelo, até completa solubilização. Titulou-se com solução de iodato de potássio $0,015 \text{ mol L}^{-1}$, gota a gota, sob agitação constante, mantendo a temperatura abaixo de $10 \text{ }^\circ\text{C}$. Próximo ao ponto final adicionou-se 0,5 mL de solução de amido e titulou-se até coloração azul-cobalto persistente por, no mínimo, 1 min.

Cada 1 mL de iodato de potássio $0,015 \text{ mol L}^{-1}$ equivale a 15,8112 mg de dipirona.

Solução Oral

Pesou-se em um becker o volume equivalente a 1,25 g de medicamento, transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL, completando-o com água previamente resfriada abaixo de 10 °C, mantendo-se o balão em banho de gelo. Retiraram-se alíquotas de 10 mL de cada uma dessas soluções (amostras diferentes), e adicionou-se em um erlenmeyer, acrescentando-se, aproximadamente, 50 mL de água destilada previamente resfriada abaixo de 10 °C, e prosseguindo-se a titulação, conforme descrito no ponto supracitado de comprimidos.

Matéria Prima

Pesou-se cerca de 0,150 g, transferiu essa massa para um erlenmeyer da matéria-prima dissolvendo-a em 50 mL de água destilada previamente resfriada abaixo de 10 °C. Adicionou-se 5 mL de ácido sulfúrico 10 % (v/v) e 1 g de iodeto de potássio. Agitou-se, magneticamente, em banho de gelo, até completa solubilização. Titulou-se com solução de iodato de potássio 0,015 mol L⁻¹, gota a gota, sob agitação constante, mantendo a temperatura abaixo de 10 °C. Próximo ao ponto final foi adicionado 0,5 mL de suspensão de amido e titulou-se até coloração azul-cobalto persistente por, no mínimo, 1 min.

Cada 1 mL de iodato de potássio 0,015 mol L⁻¹ gasto na titulação, equivale a 15,8112 mg de Dipirona Sódica Monoidratada.

A relação de que cada 1 mL de KIO₃ 0,015 mol L⁻¹ SV equivale a 15,8112 mg de C₁₃H₁₆N₃NaO₄S.H₂O pode ser facilmente observada quando se conhece a estequiometria da reação.

4.3.3 Metodologia Proposta

Comprimido/Matéria-Prima

Pesou-se individualmente e pulverizou-se 20 comprimidos. Pesou-se a quantidade do pó equivalente a 0,025 g de C₁₃H₁₆N₃NaO₄S.H₂O, dissolveu-se com H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ e transferiu-se para um balão volumétrico de 50 mL e completou-se ao volume do balão. Em seguida, filtrou-se a solução. Retirou-se uma alíquota de 2,1 mL e transferiu-se para tubo Falcon de 15 mL que foi completado com solução de H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ até atingir o volume de 14 mL.

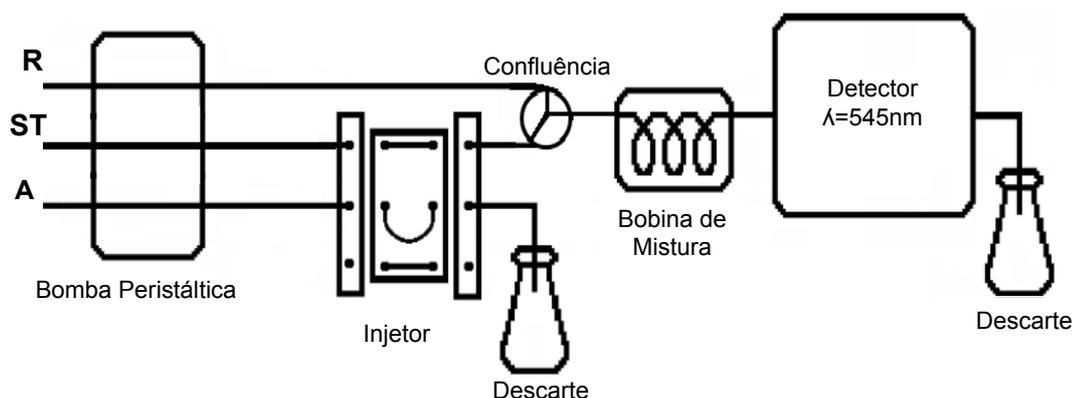
Solução Oral

Para diluir a amostra inicial de 500 mg mL^{-1} (valor rotulado) da solução oral de dipirona, retirou-se um volume de $0,1 \text{ mL}$ ($100 \text{ }\mu\text{L}$) do medicamento, transferiu-se para um balão volumétrico de 50 mL e completou-se com uma solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (1ª diluição).

Em seguida, realizou-se a segunda diluição, para qual foi necessário retirar uma alíquota de $1,05 \text{ mL}$ da solução anteriormente preparada e transferiu-se para tubo Falcon de 15 mL que foi completado com solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ até atingir o volume de 14 mL .

As amostras foram analisadas pelo Método Proposto conforme a configuração de montagem do sistema de injeção em fluxo mostrado na Figura 14. Nesse sistema, a amostra é transportada com o auxílio de uma solução de ácido sulfúrico. Após sua injeção a mesma é confluída com o reagente (solução de permanganato de potássio). A medida que a reação ocorre, o esmaecimento da coloração da solução do reagente aumenta proporcionalmente com a concentração de dipirona presente na amostra injetada. O sinal analítico é monitorado através do uso de um espectrofotômetro em 545 nm .

Figura 14 - Configuração do sistema de análise química por injeção em fluxo para determinação de dipirona.



Legenda: R (Reagente: KMnO_4 $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$); ST (Solução Transportadora: H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$); A (Amostra ou Solução Padrão de Dipirona); Alça de Amostragem de 20 cm - Volume de Amostra/Padrão $76,9 \text{ }\mu\text{L}$; Comprimento da Bobina de Mistura 50 cm ; Vazão do Sistema $2,90 \text{ mL min}^{-1}$; Detector: Espectrofotômetro UV/Vis, $\lambda = 545 \text{ nm}$;

4.4 Validação Metodologia Proposta

4.4.1 Seletividade

Estudo da Adição e Recuperação de Padrão

A avaliação da adição e recuperação do analito foi realizada objetivando verificar a seletividade do método Proposto, possibilitando avaliar possíveis interferências de substancias coadjuvantes e/ou excipientes presentes nas das formulações farmacêuticas (amostras) nas análises. Para realização deste procedimento, prepararam-se quatro soluções contendo a amostra de medicamento (comprimido e solução oral), conforme descrito no item 4.3.3, em seguida antes de se completar o volume de 14 mL de cada solução da amostra preparada, adicionou-se volumes distintos de uma solução padrão de dipirona de 100 mg L^{-1} , visando preparar soluções padrão de dipirona sódica de 10, 25 e 50 mg L^{-1} , em seguida, todas as soluções foram completadas utilizando-se uma solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

Na Tabela 06, apresenta-se a composição das 4 soluções de cada amostra preparada para realização do teste de adição e recuperação de padrão.

Tabela 06 - Composição de cada amostra preparada para realização do teste de adição e recuperação de padrão.

Tubo falcon	Amostras para Teste de Adição e Recuperação de Padrão
1	Apenas Amostra*.
2	Amostra* + Solução padrão de dipirona 10 mg L^{-1} .
3	Amostra* + Solução padrão de dipirona 25 mg L^{-1} .
4	Amostra* + Solução padrão de dipirona 50 mg L^{-1} .

*(Contendo $\sim 75,0 \text{ mg L}^{-1}$ de dipirona, dissolvida/diluída meio sulfúrico $0,5 \text{ mol L}^{-1}$).

Em seguida, efetuaram-se as leituras de variação de absorbância em 545 nm das 4 soluções de cada amostra avaliada. A partir das médias de variações de absorbâncias obtidas, encontrou-se a concentração (mg L^{-1}) de dipirona apenas na amostra e a concentração da dipirona na amostra de medicamento mais o padrão adicionado – item 5.4.3. Relacionou-se as concentrações obtidas através da Eq. 03 (na pág. 95), e então, avaliou-se a recuperação do padrão adicionado.

Ressalta-se que em cada dia de realização da avaliação de adição e recuperação de padrão, preparou-se uma curva de calibração com soluções padrão do analito variando entre $5,0 - 250,0 \text{ mg L}^{-1}$ conforme descrito no item 4.4.2.

.4.4.2 Linearidade

A linearidade no método proposto foi avaliada pela construção da curva analítica de calibração de soluções padrão de dipirona.

Curva de Calibração

Para a construção da curva de calibração de soluções padrão de dipirona foi inicialmente preparada uma solução do analito de 500 mg L⁻¹. Em seguida, retirou-se alíquotas distintas da solução padrão de dipirona 500 mg L⁻¹ e adicionou-se aos tubos Falcon de 15 mL, de modo que a concentração final das soluções para construção da curva de calibração variou de 5,0 a 250 mg L⁻¹. Completou-se o volume dos tubos com uma solução de H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ até a marca de 14 mL e em seguida efetuaram-se as leituras de variação de absorvância em 545 nm contra um branco preparado apenas com a solução sulfúrica de concentração supracitada.

Em seguida, construiu-se a curva de calibração traçando-se o gráfico dos valores de variação de absorvância em função da concentração de dipirona.

4.4.3 Precisão e Exatidão do Método Proposto

A precisão e exatidão do método proposto foram avaliadas através da utilização/aplicação do teste da razão de variâncias (teste F) e t de Student, respectivamente. Essas ferramentas estatísticas são os rotineiramente utilizados para avaliar/comparar a precisão e exatidão de métodos analíticos desenvolvidos com métodos tradicionais de referência (VOGEL, 2002).

- **Teste da Razão de Variâncias (Teste F)**

Usado para comparar as precisões de dois conjuntos de resultados/dados. O teste F pode ser representado pela equação a seguir:

$$F = s_A^2 / s_B^2$$

Onde s_A² corresponde ao quadrado do desvio padrão de um conjunto de medidas A; s_B² corresponde ao quadrado do desvio padrão de um conjunto de medidas B.

Ressalta-se que o maior quadrado do desvio padrão sempre é colocado no numerador. A significância do valor encontrado do teste F é avaliada por comparação baseando-se também no grau de liberdade de ambos os conjuntos de resultados.

- **Teste t pareado**

Teste t pareado é uma ferramenta estatística rotineiramente usada para representar intervalos de confiança e para comparação de resultados experimentais distintos, principalmente quando dois métodos de análises são comparados através do estudo de amostras contendo diferentes quantidades de analito (HARRIS, 2001) (MILLER; MILLER, 2005). O teste t pode ser representado pela equação a seguir:

$$t \text{ calculado} = \bar{d} / (S_d / \sqrt{N})$$

Onde \bar{d} corresponde a diferença média igual a $\sum d_i / N$; S_d corresponde ao desvio padrão da diferença; N corresponde ao número de pares de medida.

4.4.3.1 Repetitividade

A repetitividade do Método Proposto foi avaliada a partir da construção e comparação de curvas de calibração construídas com soluções padrão de dipirona em diferentes dias, conforme descrito no item 4.4.2, diferenciando apenas nas concentrações das soluções padrão, que variaram de 5,0 a 25,0 mg L⁻¹.

4.4.4 Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

Segundo Ribani e colaboradores (2004) uma das maneiras de calcular o LD e o LQ é através dos parâmetros da curva analítica. Assim, o limite de detecção (LD) – Eq. 01, e o limite de quantificação (LQ) – Eq. 02, podem ser expressos como:

$$LD = 3 \times \frac{s}{S} \quad \text{Eq.01}$$

$$LQ = 10 \times \frac{s}{S} \quad \text{Eq.02}$$

Onde s é a estimativa do desvio padrão da resposta, que pode ser a estimativa do desvio padrão do branco, no desvio padrão residual da equação da linha de regressão ou no desvio padrão do coeficiente linear da equação e S é a inclinação ou coeficiente angular da curva analítica (RIBANI, et al., 2004) (BARROS, 2002).

A melhor maneira para calcular o LD e LQ é através do método baseado nos parâmetros da curva analítica, que é estatisticamente mais confiável. Assim, para o cálculo do limite de detecção e do limite de quantificação do método proposto utilizou-se o desvio padrão do coeficiente linear da curva analítica de calibração para determinação da dipirona.

4.5 Interferentes

Para avaliação do efeito de interferentes na quantificação de dipirona em medicamentos através do Método Proposto, preparou-se quatro soluções contendo o padrão de dipirona, conforme descrito no item 4.4.2, em seguida antes de se completar o volume de 14 mL de cada solução da amostra preparada, adicionou-se volumes distintos de uma solução padrão de cafeína de 500 mg L^{-1} , visando preparar soluções padrão de dipirona sódica de 75 mg L^{-1} , juntamente com soluções padrão de cafeína de 10, 75, 150 mg L^{-1} , em seguida, todas as soluções foram completadas utilizando-se uma solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

Na Tabela 07, apresenta-se a composição das 4 soluções de cada amostra preparada para realização do estudo de interferente.

Tabela 07 - Composição de cada amostra preparada para realização do estudo de interferente através do método proposto.

Tubo Falcon	Amostras para Teste Interferente
1	Apenas solução padrão de dipirona 75 mg L^{-1} .
2	Solução padrão de dipirona 75 mg L^{-1} + Solução padrão de cafeína 10 mg L^{-1} .
3	Solução padrão de dipirona 75 mg L^{-1} + Solução padrão de cafeína 75 mg L^{-1} .
4	Solução padrão de dipirona 75 mg L^{-1} + Solução padrão de cafeína 150 mg L^{-1} .

Em seguida, efetuaram-se as leituras de variação de absorvância em 545 nm das 4 soluções avaliadas. A partir das médias de variações de absorvâncias obtidas, encontrou-se a concentração (mg L^{-1}) da solução estando apenas o padrão de dipirona e a concentração da dipirona juntamente com o padrão de cafeína. Relacionou-se as variações de absorvâncias obtidas através da Eq. 06 (na pág. 105), e então, avaliou-se a concentração da solução padrão de dipirona.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Otimização das Condições Experimentais do Sistema

A otimização dos parâmetros experimentais foi realizada objetivando obter melhor rendimento do sistema proposto de análise química por injeção em fluxo utilizando detecção por espectrometria de absorção molecular. Para isso, avaliaram-se parâmetros capazes de influenciar na magnitude do sinal analítico buscando-se a melhor sensibilidade, economia de reagente e amostras e tempo de análise. Todos os testes de otimização basearam-se no método de comparação univariado, onde cada parâmetro é submetido à otimização individualmente à medida que as demais condições permanecem fixas.

Parâmetros físicos como, volume de amostra, vazão das soluções e influência do uso de bobina de reação foram avaliados, sendo as melhores condições escolhidas como parâmetros operacionais propostos no trabalho.

Destaca-se que a vazão, o percurso analítico e volume de amostra devem ser estudados e definidos considerando-se a dispersão e o tempo de residência necessário para a ocorrência das reações químicas (ROCHA, *et al.*, 1999)

Parâmetros químicos como concentração da solução transportadora (Ácido Sulfúrico) e do reagente (Permanganato de Potássio) foram avaliados, sendo escolhidas as melhores condições através da sensibilidade do sinal analítico.

5.1.1 Espectro de Absorção Molecular do KMnO_4

O procedimento analítico desenvolvido no presente estudo, que utiliza análise por injeção em fluxo (FIA) com detecção espectrofotométrica para a quantificação de dipirona em medicamentos utiliza como reagente o permanganato de potássio. A metodologia consiste na oxidação da dipirona pelo KMnO_4 , em meio sulfúrico, baseando-se no aproveitamento analítico do descolorimento da solução de KMnO_4 em meio sulfúrico. Esse descolorimento ocorre devido a redução dos íons MnO_4^- a Mn^{2+} que em solução aquosa são incolores.

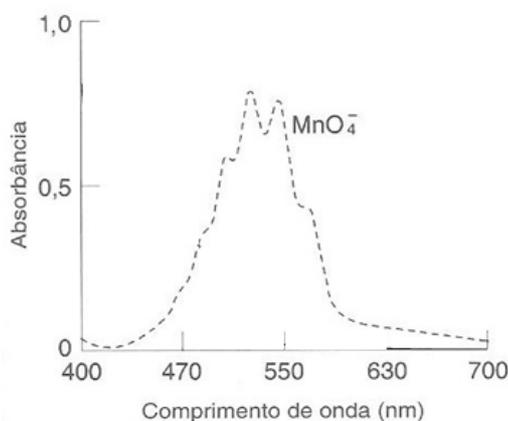
Assim, para não trabalhar com absorbâncias negativas, todas as medições basearam-se em variações de absorbância (ΔA), na qual a linha base é relativa à coloração inicial da solução de KMnO_4 em contato com a solução carregadora, ou seja, sem o analito ou padrão. Feito isso, após injetar o analito, na forma de amostra ou padrão observa-se um decréscimo de absorbância após a reação do KMnO_4 e a dipirona, em meio sulfúrico. A partir daí, tem-se que:

$$\Delta A = A_i - A_f$$

Onde, ΔA = Variação de Absorbância; A_i = Absorbância inicial – linha base com solução de KMnO_4 ; A_f = Absorbância final – decréscimo máximo.

Para escolha do comprimento de onda (λ) a ser monitorado, rotineiramente utiliza-se valor ou valores de comprimento de onda onde haja máxima sensibilidade. Essas escolhas são justificáveis principalmente no caso em que o analito está em baixas concentrações. Com relação ao permanganato de potássio, encontramos na literatura um valor de máximo em 545 nm, podendo esse valor estar um pouco mais ou um pouco menos deslocado. Na literatura, encontra-se disponível o espectro de absorção dos íons MnO_4^- . Por tratar-se de uma substância bastante conhecida, alguns livros texto trazem o espectro de absorção de soluções de permanganato de potássio, como o Vogel (2002). Abaixo se observa o espectro de uma solução de permanganato de potássio (Figura 15).

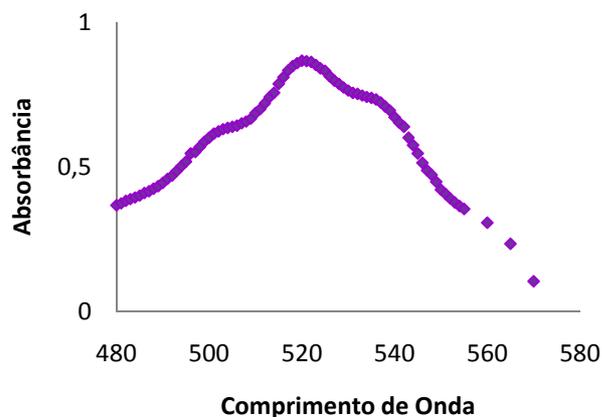
Figura 15 - Espectro de absorção dos íons MnO_4^- no visível.



FONTE: VOGEL, 2002

Além disso, registrou-se o espectro de absorção de uma solução de KMnO_4 $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ em ácido sulfúrico $0,10 \text{ mol L}^{-1}$. A Figura 16 traz o resultado do experimento.

Figura 16 - Espectro de absorção dos íons MnO_4^- (em meio sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) no visível.



Observa-se que o máximo está em aproximadamente 520 nm, mas temos também um ombro em aproximadamente 540 nm. O valor do comprimento de onda escolhido para monitoramento da variação do sinal analítico foi 545 nm. Com isso, observa-se que não estamos monitorando o sinal em seu comprimento de onda de máxima sensibilidade, contudo, como as concentrações do analito nas amostras são bastante elevadas, o fato de não monitorarmos o sinal analítico no seu máximo de sensibilidade não causará perda de informação, sendo este comprimento de onda utilizado para realização das medidas de descoloramento da reação entre KMnO_4 e a dipirona.

5.1.2 Influência do Volume de Amostra/Padrão

O aumento do volume da alça de amostragem apresenta uma relação linear com o sinal analítico obtido, isso até ser atingido um patamar, no qual a quantidade do analito não proporciona mais variação significativa do sinal analítico (SANTOS, 2004). Assim, o volume de amostra injetado no sistema influencia diretamente na magnitude do sinal analítico, mas influencia também, no consumo de padrão/amostra e no tempo de análise (ZAGATTO, *et al.*, 1983).

Diante do descrito, é importante atentar-se não apenas ao sinal analítico, mas também para a frequência de análises - tempo necessário para que, após a injeção da amostra, o sinal analítico atinja seu máximo e retorne a linha base.

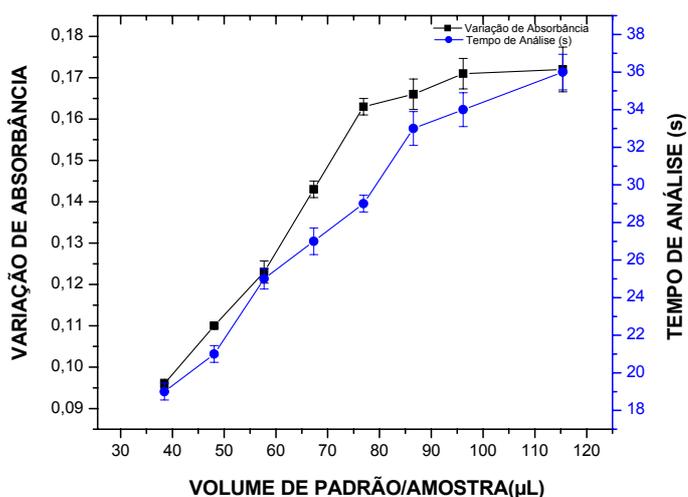
O estudo de variação do volume de amostra/padrão injetado foi avaliado com o uso de alças de amostragem com os seguintes comprimentos: 10, 12,5, 15, 17,5, 20,0, 22,5, 25 e 30,0 cm de comprimento, que correspondem a 38,5; 48,1; 57,7; 67,3; 76,9;

86,5; 96,2; 115,4 μL respectivamente, considerando que os tubos de polietileno utilizados possuem diâmetro interno de 0,7 mm. Além do estudo de variação do volume de amostra/padrão injetado avaliou-se o tempo de análise referente ao uso de cada alça de amostragem.

Os demais parâmetros do sistema mantiveram-se fixos, assim, as condições experimentais foram: sem uso de bobina de mistura, vazão das soluções $3,70 \text{ mL min}^{-1}$, H_2SO_4 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, KMnO_4 $0,001 \text{ mol L}^{-1}$, dipirona $75,00 \text{ mg L}^{-1}$, $\lambda = 545 \text{ nm}$.

Os resultados estão representados na Figura 17.

Figura 17 - Influência do volume de amostra/padrão injetado (n=3).



Observando-se os resultados obtidos e apresentados na Figura 17, percebe-se que à medida que aumenta-se o volume de amostra/padrão injetado no sistema, aumenta-se o sinal analítico obtido. No entanto, o aumento do volume da alça de amostragem a partir $76,9 \mu\text{L}$ de amostra/padrão proporciona um acréscimo pouco significativo da sensibilidade (sinal analítico), e ainda proporciona aumento da incerteza das medidas.

Além disso, apesar de ocorrer o aumento do sinal analítico em função do incremento de volume injetado de amostra/padrão também ocorreu o aumento do tempo necessário para que o sinal analítico atinja seu máximo e retorne a linha base. Observa-se que quanto maior o volume da alça de amostragem, menor a frequência analítica devido ao maior tempo decorrido nas etapas de limpeza e lavagem do sistema.

Assim, adotou-se o volume de $76,9 \mu\text{L}$ de amostra injetada para os estudos posteriores de determinação do analito por apresentar satisfatório compromisso entre o volume de amostra/padrão consumidos e a magnitude do sinal analítico sem comprometer a frequência analítica.

5.1.3 Influência do Comprimento da Bobina de Mistura

A utilização de bobina de mistura em sistemas de análise química por injeção em fluxo é uma prática comum e rotineira, principalmente, quando se necessita aumentar o tempo de contato entre o reagente cromogênico e a amostra, para melhorar o sinal analítico. A bobina de reação também é utilizada quando se deseja reduzir a variação dos índices de refração das soluções que confluem, pois, gradientes de concentração na zona de amostragem geram interfaces entre soluções com diferentes índices de refração (Efeito Schlieren), ocasionando aumento do ruído dos sinais e diminuindo a sensibilidade analítica (GONSALVES, 2008) (NASCIMENTO, 2007).

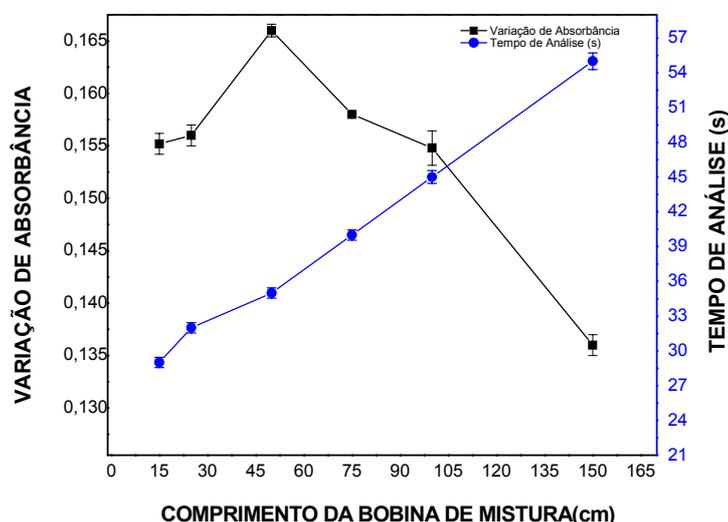
Destaca-se, no entanto, que a utilização de grandes comprimentos da bobina de mistura pode gerar problemas, tais como, o aumento do tempo de análise (maior tempo de residência e diminuição do sinal analítico em amostras com baixas concentrações, provocado pela dispersão dos segmentos de amostra e reagente no sistema). Nessa perspectiva, realizou-se o estudo da influência do comprimento da bobina de reação para obtenção do melhor sinal analítico.

Variou-se o comprimento da bobina de reação em 15, 25, 50, 75, 100 e 150 cm de comprimento, utilizando-se tubos de polietileno com diâmetro interno de 0,7 mm enrolados em um suporte.

Para tanto os demais parâmetros do sistema mantiveram-se fixos, assim, as condições experimentais foram: volume de amostra/padrão 76,9 μL , vazão das soluções 3,70 mL min^{-1} , H_2SO_4 0,10 mol L^{-1} , KMnO_4 0,001 mol L^{-1} , dipirona 75,00 mol L^{-1} , $\lambda = 545 \text{ nm}$.

Na Figura 18 são apresentados os resultados para o estudo da influência do comprimento da bobina de mistura.

Figura 18 - Influência do comprimento da bobina de reação (n=3).



Observando-se a Figura 18, percebe-se que a partir do aumento do comprimento da bobina de mistura, ocorre o aumento do sinal analítico até o comprimento de bobina de mistura de 50 cm. Para comprimentos superiores a este valor, observa-se o decréscimo sinal analítico, ocasionado, provavelmente pela dispersão da amostra na solução carregadora.

Além do sinal analítico, relacionou-se o comprimento da bobina de reação ao tempo de análise (em segundos). Esse estudo, que foi realizado observando-se o aumento do sinal analítico (sensibilidade) com o tempo mínimo necessário para que a reação se completasse e ao aumento da frequência analítica do método.

A bobina de mistura de 50 cm foi a que demonstrou melhor desempenho em relação ao sinal analítico. Em relação à frequência analítica observa-se que não foi comprometido ao selecionar o comprimento de 50 cm, pois seu tempo de análise foi pouco superior as bobinas com comprimentos menores. Diante disso, a bobina de mistura de 50 cm foi escolhida para os estudos subsequentes de determinação do analito.

5.1.4 Influência da Vazão Sobre o Sinal Analítico

A vazão é inversamente proporcional ao tempo médio de residência da amostra no sistema e conseqüentemente, relaciona-se com o tempo disponível para que as reações químicas envolvidas no processo ocorram. Assim, através da vazão pode-se aproveitar o tempo de residência da reação utilizada (COELHO, *et al.*, 2006). Além da cinética da reação, o estudo de vazão é importante, pois se relaciona com a dispersão da zona de amostragem ou interpenetração das zonas de reação (GONSALVES, 2008).

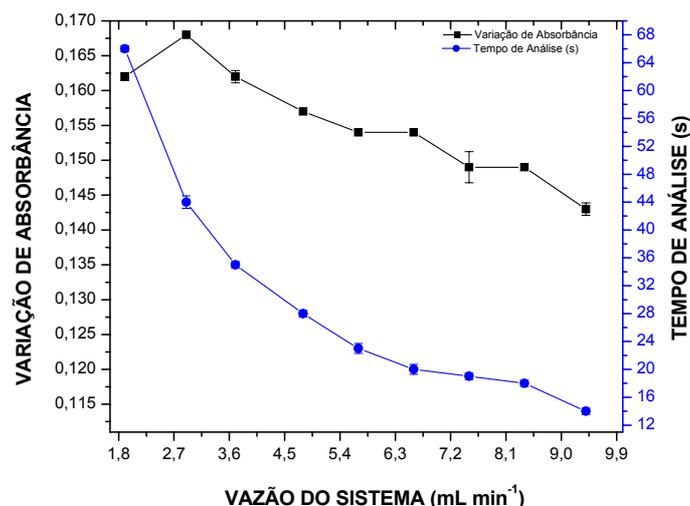
Nessa perspectiva, realizou-se o estudo sobre a vazão das soluções utilizando-se tubos de propulsão de TYGON® de 1,30 mm de diâmetro interno para o reagente, a solução transportadora e amostra. As diferentes vazões foram obtidas devido a ajustes na vazão nominal controlada pela bomba peristáltica.

Assim, o estudo da influência da vazão sobre o sinal analítico foi avaliado considerando as seguintes vazões: 1,90; 2,80; 3,70; 4,80; 5,70; 6,60; 7,50; 8,40; 9,40 mL min⁻¹. Para cada vazão avaliou-se o tempo de análise, ou seja, foi cronometrado o tempo decorrido entre o início de variação do sinal, chegando ao sinal mínimo até o retorno da linha base.

Para avaliação da influência da vazão manteve-se às seguintes condições experimentais fixas: volume de amostra/padrão 76,9 µL, comprimento da bobina de mistura 50 cm, H₂SO₄ 0,10 mol L⁻¹, KMnO₄ 0,001 mol L⁻¹, dipirona 75 mol L⁻¹, λ = 545 nm.

Apresenta-se o estudo da vazão do sistema através da Figura 19.

Figura 19 - Influência da vazão do sistema (n=3).



A partir da Figura 19 acima, observa-se que da vazão de 1,90 a 2,80 mL min⁻¹ aumenta-se o sinal analítico, e a partir de 2,80 ml min⁻¹, à medida que aumenta-se a vazão das soluções há redução no sinal analítico. Podendo-se concluir com isto, a necessidade de maior tempo de residência ou contato entre as soluções para maior eficiência da reação. Dessa maneira, a vazão adotada para o sistema proposto, a partir deste estudo foi 2,80 mL min⁻¹ por apresentar um bom sinal analítico, baixo consumo de reagentes, e por apresentar boa relação entre o sinal analítico obtido e a frequência analítica (Figura 19) que foi medida em aproximadamente 45 segundos por injeção.

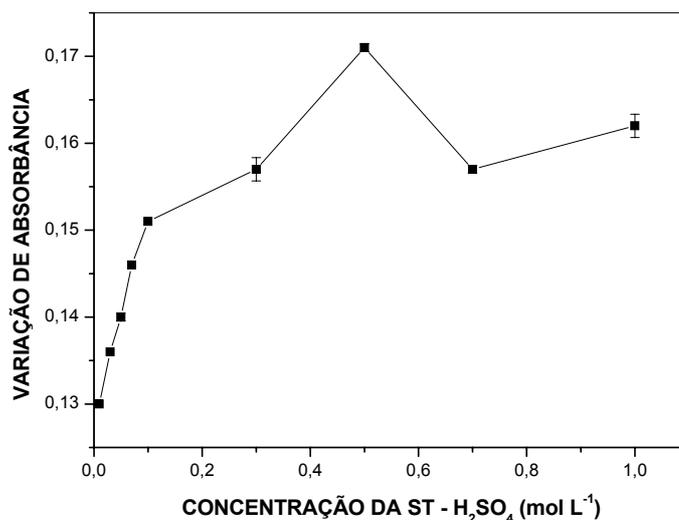
5.1.5 Influência da Concentração do Ácido Sulfúrico

Avaliou-se o efeito da solução transportadora sendo uma solução de ácido sulfúrico com concentração variando de 0,01; 0,03; 0,05; 0,07; 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 1,0 mol L⁻¹.

Para avaliação da influência da acidez manteve-se às seguintes condições experimentais fixas: volume de amostra/padrão 76,9 µL, comprimento da bobina de mistura 50 cm, vazão do sistema 2,80 mL min⁻¹, KMnO₄ 0,001 mol L⁻¹, dipirona 75 mol L⁻¹, λ = 545 nm.

Apresenta-se o estudo do efeito da concentração de H₂SO₄ na Figura 20.

Figura 20 - Avaliação da concentração da solução transportadora – ácido sulfúrico, em relação ao sinal analítico (n=3).



A partir da Figura 20, observa-se que com o aumento gradativo da concentração do ácido até 0,5 mol.L⁻¹, aumenta-se o sinal analítico. A partir dessa concentração (H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹) percebe-se o decréscimo da resposta do sinal analítico.

Assim, a concentração do ácido sulfúrico adotada neste estudo foi 0,5 mol L⁻¹ de H₂SO₄ por apresentar a melhor sensibilidade.

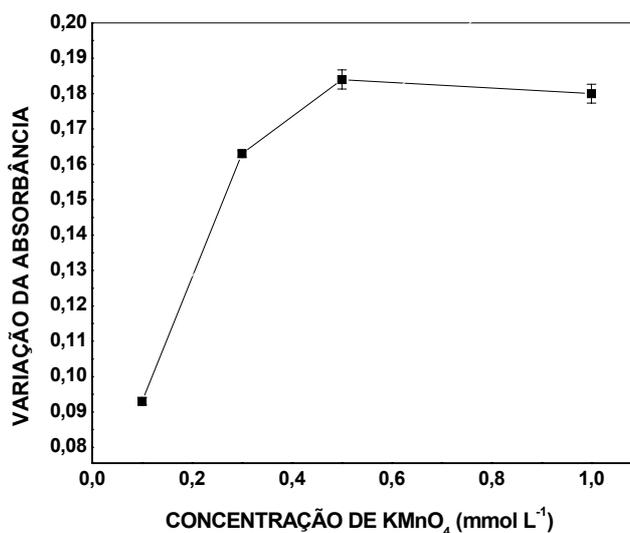
5.1.6 Influência da Concentração de Permanganato de Potássio

Avaliou-se a influência da concentração do permanganato de potássio sobre o sinal analítico. Essa avaliação foi realizada, assim como demais estudos, para propor a condição de maior sensibilidade ao sistema proposto.

O estudo da concentração da solução de KMnO₄ foi avaliado considerando as seguintes concentrações: 0,1 mmol L⁻¹; 0,3 mmol L⁻¹; 0,5 mmol L⁻¹; 1,0 mmol L⁻¹, e os resultados obtidos são apresentados na Figura 21.

Para avaliação da influência da concentração da solução de permanganato de potássio manteve-se às seguintes condições experimentais fixas: volume de amostra/padrão 76,9 µL, comprimento da bobina de mistura 50 cm, vazão do sistema 2,80 mL min⁻¹, H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹, dipirona 75 mol L⁻¹, λ= 545 nm.

Figura 21 - Avaliação da concentração da solução de permanganato de potássio em relação ao sinal analítico (n=3).



Observando-se a figura 21 acima, percebe-se que ocorreu aumento do sinal analítico à medida que aumentou-se a concentração da solução de KMnO₄, mas isso ocorreu até a concentração de 0,5 mmol L⁻¹, pois a partir dessa concentração observou-se leve decréscimo do sinal analítico obtido quando avaliada a concentração da solução de KMnO₄ 1,0 mmol L⁻¹.

Ressalta-se que a concentração adotada foi 1,0 mmol L⁻¹ de KMnO₄, pois era a concentração que já vinha sendo utilizada nos estudos anteriores e apesar de apresentar pequeno decréscimo em relação a concentração anterior, esse sinal se mostrou muito próximo a variação de absorbância obtida diante do uso de uma solução KMnO₄ 0,5 mmol L⁻¹.

5.1.7 Influência da Acidez no Preparo das Amostras

O padrão e as amostras de dipirona apresentaram-se bastante solúveis apenas na presença de água destilada. No entanto, devido aos seguintes motivos:

1. O reagente – KMnO₄ foi preparado na presença de ácido e a própria solução transportadora é uma solução de ácido sulfúrico;
2. As formulações farmacêuticas com princípio ativo dipirona são elaboradas para haver solubilidade máxima no estômago, onde o pH do meio é ácido (pH ~ 0,9 – 2,0).

Avaliou-se a influência da acidez do meio de dissolução do padrão/amostra. Para isso, avaliou-se a dissolução do padrão de dipirona apenas em água destilada

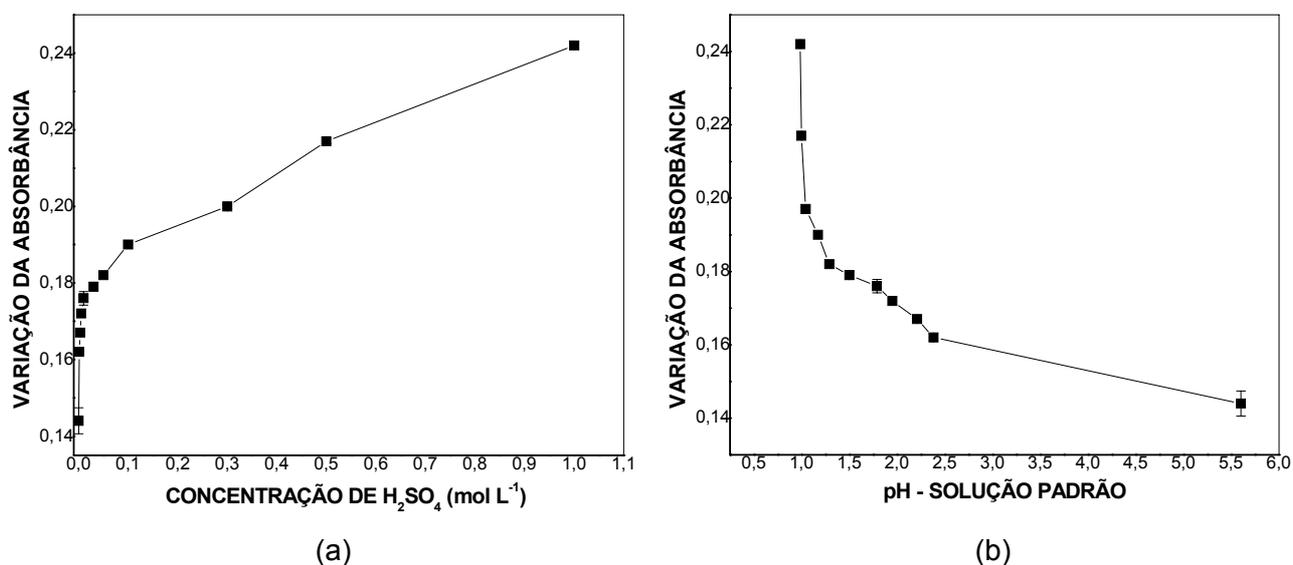
sobre o sinal analítico e, em seguida, avaliou-se a variação da concentração do ácido sulfúrico na dissolução/preparação da solução do padrão contra o sinal analítico obtido. Além disso, mediu-se o pH do meio da solução do padrão e relacionou-se o mesmo sinal gerado.

O estudo da concentração da solução de H_2SO_4 foi avaliado considerando as seguintes concentrações: 0,001; 0,003; 0,005; 0,01; 0,03; 0,05; 0,1; 0,3; 0,5; 1,0 mol L^{-1} , tendo essas soluções sulfúricas na presença da dipirona apresentado, pH de: 2,4; 2,2; 1,9; 1,8; 1,5; 1,3; 1,1; 1,0; 0,9; 0,9, respectivamente. A solução padrão de dipirona quando dissolvida apenas em água destilada apresentou pH de 5,5, sendo esse ponto representado no gráfico como 0.

Para avaliação da influência do pH no preparo das soluções de padrão/amostras utilizou-se às seguintes condições experimentais fixas: volume de amostra/padrão 76,9 μL , comprimento da bobina de mistura 50 cm, vazão do sistema 2,80 mL min^{-1} , H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} , KMnO_4 1,0 mmol L^{-1} , dipirona 75 mol L^{-1} , $\lambda = 545 \text{ nm}$.

O estudo da variação da acidez na preparação da solução padrão e o pH do meio através são apresentados na Figura 22.

Figura 22 - Avaliação da concentração do H_2SO_4 (mol L^{-1}) utilizado na dissolução/preparação da solução do padrão de dipirona em função do Sinal Analítico (n=3) (a), Efeito do pH da solução do padrão dipirona versus Sinal Analítico (n=3) (b).



Pode-se observar que com o aumento da concentração da solução de H_2SO_4 utilizada no preparo da solução padrão de dipirona, aumentou-se o sinal analítico gerado. Ou seja, quanto mais ácido – menor pH do meio, maior o sinal analítico obtido.

Nessa perspectiva, a concentração do ácido adotada foi $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$, pois observa-se uma resposta analítica satisfatória. Além disso, essa concentração apresenta boa relação custo X benefício, pois apesar do H_2SO_4 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ apresentar melhor sinal analítico, necessitar-se-ia maior gasto do ácido.

5.1.8 Condições Experimentais Adotadas para o Sistema FIA Proposto

Após a avaliação dos parâmetros físicos e químicos que constituem o sistema de análise química por injeção em fluxo proposto, apresentam-se as condições finais através da Tabela 08, a seguir.

Tabela 08 - Condições experimentais finais para o sistema FIA proposto com detecção espectrofotométrica ($\lambda = 545 \text{ nm}$).

Parâmetros Experimentais Otimizados		Faixa Avaliada	Valor Adotado
Físicos	Volume de Amostra/Padrão (μL)	38,5 - 115,4	76,9
	Comprimento da Bobina (cm)	10 - 150	50
	Vazão do Sistema (mL min^{-1})	1,90 - 9,40	2,90
Químicos	Concentração de H_2SO_4 (mol L^{-1})	0,1 - 1,0	0,5
	Concentração de KMnO_4 (mmol L^{-1})	0,1 - 1,0	1,0
	Concentração de H_2SO_4 (mol L^{-1}) para preparar amostras	0,001 - 1,0	0,5
	Comprimento de Onda (nm)	480 - 580	545

Ressalta-se ainda que a solução transportadora é uma solução de ácido sulfúrico, o reagente cromogênico é uma solução de permanganato de potássio, e as soluções padrão/amostras foram preparadas em meio sulfúrico.

A configuração do sistema FIA de análise química de quantificação da dipirona é apresentada na Figura 23.

Figura 23 - Configuração do sistema FIA para o método proposto.



5.2 Validação do Método Proposto

Para realizar a validação do método proposto avaliaram-se alguns parâmetros, tais como: seletividade – através do teste de adição e recuperação de padrão, linearidade, precisão, exatidão, repetitividade, limite de detecção e limite de quantificação. Sendo os resultados, apresentados nos tópicos a seguir:

5.2.1 Seletividade

Estudo de Adição e Recuperação de Padrão

Estudo de seletividade foi realizado através do teste de adição e recuperação de padrão. Neste estudo, quantidades conhecidas de dipirona sódica pura (padrão analítico) foram adicionadas as amostras (comprimidos e solução oral), sendo estas analisadas com e sem a adição do padrão, avaliando-se, então o percentual de recuperação do analito, através da Eq. 03.

Para realização dos testes de recuperação de padrão, selecionou-se 15 amostras, sendo 10 cápsulas/comprimidos e 5 soluções orais.

Ressalta-se que para quantificar as amostra de dipirona sem e com a adição do padrão, foram construídas nos dias de análise curvas de calibração. Apresenta-se na Tabela 09 a seguir, as datas das análises, bem como as retas das curvas analíticas construídas.

Tabela 09 - Data, equações da reta e forma das amostras utilizadas para estudo da adição e recuperação de padrão de dipirona.

Data do Experimento	Equação da Reta	Forma da Amostra
07/07/2011	$y = 0,0028 (\pm 0,0001)C + 0,0039 (\pm 0,0019)$	Comprimidos e Cápsulas
08/07/2011	$y = 0,0028 (\pm 0,0001)C + 0,0065 (\pm 0,0041)$	Solução Oral

Após a quantificação das concentrações do analito, utilizou-se a equação a seguir para avaliar a recuperação de padrão do padrão.

$$\text{Recuperação (\%)} = [(C_{A+P} - C_A)/C_P] * 100 \quad \text{Eq. 03}$$

Onde, C_{A+P} corresponde à concentração do analito na amostra adicionada do padrão; C_A corresponde à concentração do analito na amostra sem nenhuma adição de padrão (em mg L^{-1}) e C_P corresponde à concentração do padrão adicionado na amostra (em mg L^{-1}).

Os resultados do estudo da adição e recuperação de padrão são apresentados na tabela 10. A Tabela 10 disponibiliza ainda os resultados médios de três determinações.

Tabela 10 - Recuperação das soluções padrão de dipirona adicionada às amostras de formulações farmacêuticas e analisadas pelo método proposto.

AMOSTRA	Concentração de Dipirona (mg L ⁻¹)				RECUPERAÇÃO (%)
	[D] _i ^a	ADICIONADO	[DIPIRONA] ^b	RECUPERADO	
1	67,3 ± 0,2	10	77,1 ± 0,2	9,9	98,8 ± 1,1
		25	91,4 ± 0,2	24,2	96,7 ± 0,1
		50	112,8 ± 0,2	45,6	91,2 ± 0,1
3	73,2 ± 0,1	10	83,6 ± 0,2	10,3	103,6 ± 1,1
		25	97,9 ± 0,3	24,6	98,6 ± 1,3
		50	122,1 ± 0,2	48,9	97,8 ± 0,3
7	75,4 ± 0,2	10	86,4 ± 0,2	11,1	110,7 ± 0,1
		25	102,1 ± 0,2	26,8	107,1 ± 0,8
		50	124,3 ± 0,2	48,9	97,8 ± 0,6
8	59,6 ± 0,2	10	70,7 ± 0,2	11,1	110,7 ± 1,1
		25	83,9 ± 0,1	24,3	97,1 ± 0,6
		50	107,9 ± 0,1	48,2	97,8 ± 0,3
10	66,8 ± 0,2	10	77,1 ± 0,2	10,4	103,6 ± 0,1
		25	91,4 ± 0,1	24,6	98,6 ± 0,6
		50	115,0 ± 0,1	48,2	96,4 ± 0,3
12	61,8 ± 0,5	10	72,5 ± 0,5	10,7	107,1 ± 0,1
		25	87,9 ± 0,2	26,1	104,3 ± 1,3
		50	110,0 ± 0,2	48,2	96,4 ± 0,6
13	65,0 ± 0,2	10	75,7 ± 0,2	10,7	107,1 ± 0,1
		25	90,7 ± 0,3	25,7	102,8 ± 0,6
		50	113,6 ± 0,5	48,6	97,1 ± 0,6

a = Concentração de dipirona (mg L⁻¹) inicial, sem adição do padrão de dipirona; b = Concentração de dipirona (mg L⁻¹) inicial, encontrada após a adição do padrão, ± Média de 3 medições;

Tabela 10 - Continuação. Recuperação das soluções padrão de dipirona adicionada às amostras de formulações farmacêuticas e analisadas pelo Método Proposto.

AMOSTRA	Concentração Dipirona (mg L ⁻¹)				RECUPERAÇÃO (%)
	[D] _i ^a	ADICIONADO	[DIPIRONA] ^b	RECUPERADO	
14	36,4 ± 0,3	10	47,1 ± 0,5	10,7	107,1 ± 1,2
		25	61,8 ± 0,1	25,4	101,4 ± 1,2
		50	83,9 ± 0,1	47,5	95,0 ± 0,6
15	46,8 ± 0,5	10	57,8 ± 0,5	11,1	110,7 ± 0,1
		25	70,4 ± 0,3	23,6	94,3 ± 0,6
		50	93,2 ± 0,6	46,4	92,8 ± 0,3
16	56,1 ± 0,2	10	66,8 ± 0,1	10,7	107,1 ± 1,2
		25	81,1 ± 0,1	25,0	100,0 ± 0,6
		50	105,0 ± 0,1	48,9	97,8 ± 0,3
17	67,1 ± 0,8	10	77,8 ± 0,6	10,7	107,1 ± 1,3
		25	91,8 ± 0,8	24,6	98,6 ± 0,1
		10	84,6 ± 0,5	9,6	96,4 ± 1,2
18	75,0 ± 0,6	25	98,2 ± 0,3	23,2	92,8 ± 1,3
		10	86,1 ± 0,2	11,4	104,0 ± 0,1
		25	100,0 ± 0,6	24,3	97,1 ± 1,4
23	75,7 ± 0,2	10	56,1 ± 0,2	10,7	107,1 ± 1,1
		25	68,2 ± 0,2	22,8	91,4 ± 0,6
		10	62,1 ± 0,1	10,4	103,6 ± 0,1
24	45,4 ± 0,1	25	76,4 ± 0,1	24,6	98,6 ± 0,1
		25	76,4 ± 0,1	24,6	98,6 ± 0,1

a = Concentração de dipirona (mg L⁻¹) inicial, sem adição do padrão de dipirona; b = Concentração de dipirona (mg L⁻¹) inicial, encontrada após a adição do padrão, ± Média de 3 medições;

Observando a Tabela 10, acima, destaca-se que a faixa de recuperação variou entre 91,2 a 110,7% evidenciando a exatidão do Método Proposto, além de mostrar que não há interferência significativa de matriz.

5.2.2 Linearidade

A linearidade no método proposto foi avaliada/determinada pela construção da curva analítica de calibração, a qual foi obtida em 12 níveis de concentração (5 – 250 mg L⁻¹), apresentada no item 5.3. A linearidade foi avaliada pelo método dos mínimos quadrados.

5.2.3 Precisão e Exatidão do Método Proposto

Todos os resultados obtidos pelo Método Proposto foram comparados com aqueles obtidos pela aplicação do Método Oficial recomendado pela Farmacopéia Brasileira (2010) e obtidos pelo Método Adaptado recomendado por Pestana e colaboradores (2008).

Os resultados do teste F e t são apresentados nas tabelas a seguir:

- **Teste da Razão de Variâncias (Teste F)**

Após aplicação do teste F e observando-se a Tabela 30 (Apêndice B) contendo os resultados obtidos para amostras de medicamento de dipirona através do Método Oficial e pelo Método Proposto destaca-se que:

- Para as amostras número 13 e 19, apresentaram-se fora da probabilidade estimada pelo teste F, ou seja, a diferença em desvio padrão é estatisticamente significativa;
- Para todas as demais amostras (correspondente a um total de 92,3%) não há diferença significativa nos valores de desvio padrão comparados ao nível de confiança 95%.

Conclui-se que para a maior parte dos resultados das amostras obtidos pelo método Oficial e pelo Método Proposto apresentaram valor de F calculado é menor que o valor de F tabelado, apontando que as variâncias não são significativamente diferentes. Desse modo, o método proposto proporciona resultados semelhantes ao método de referencia, existindo boa precisão entre os métodos.

Observando-se a Tabela 31 (Apêndice B) contendo o teste F aplicado aos resultados obtidos para amostras de medicamento de dipirona através do Método Adaptado e pelo Método Proposto destaca-se:

- Para todas as amostras não há diferença significativa nos valores de desvio padrão comparados ao nível de confiança 95%.

Conclui-se assim, que os resultados das amostras obtidos pelo método Adaptado e pelo Método Proposto apresentaram valor de F calculado é menor que o valor de F tabelado, apontando que as variâncias não são significativamente diferentes. Desse modo, o método proposto proporciona resultados semelhantes ao método de referencia, existindo boa precisão entre os métodos.

- **Teste t pareado**

Com aplicação do teste t pareado encontrou-se o t calculado para o conjunto de resultados obtidos pelo Método Oficial (MO), Adaptado (MA) e Método Proposto (MP) para amostras na forma de comprimidos/cápsulas e amostras na forma de solução oral, os resultados são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 - Resultados do t calculado.

MÉTODO	AMOSTRA	t_{calculado}	t_{tabelado} (Nível de Confiança 95%)
(MP/MO) ^a	Comprimido/Cápsula	0,727	4,30
	Solução Oral	0,067	4,30
(MP/MA) ^b	Comprimido/Cápsula	0,018	4,30
	Solução Oral	0,214	4,30

a = Test t pareado para resultados obtidos pelo Método Proposto e Oficial; b = Test t pareado para resultados obtidos pelo Método Proposto e Adaptado.

Para verificar a exatidão entre os métodos realizados, compara-se o resultado do $t_{calculado}$ com o $t_{tabelado}$ disponível na literatura para diferentes limites de confiança. Se o $t_{calculado}$ for maior que o $t_{tabelado}$ o nível de confiança desejado, os resultados são considerados diferentes. Como todos os valores de t calculados são inferiores ao t tabelado, ($t_{tabelado} = 4,30$), observa-se que os resultados obtidos através do Método Proposto apresentaram boa concordância com os resultados obtidos através do Método Oficial e Adaptado. A tabela indica assim, a existência de exatidão do método proposto, com um nível de confiança de 95%.

5.2.3.1 Repetitividade

A repetitividade do Método Proposto foi avaliada a partir da comparação de curvas analíticas construídas com soluções padrão de dipirona em diferentes dias. As soluções padrões de dipirona usadas nesse estudo foram preparadas na faixa de concentração de 2,5 a 25 mg L⁻¹, e as variações de absorbâncias plotadas no gráfico representam a média de 5 injeções. Em seguida, determinou-se o coeficiente de variação dos coeficientes angulares de cada equação da reta das curvas analíticas.

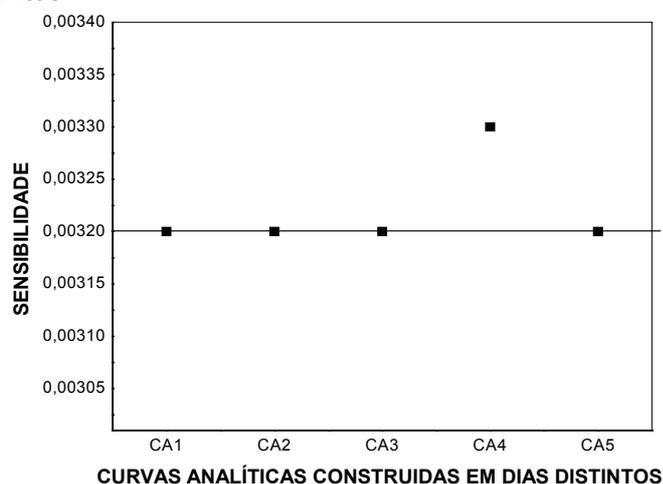
Ressalta-se que os parâmetros físicos e químicos do sistema FIA já haviam sido otimizados, sendo as condições utilizadas apresentadas na Tabela 08. Os coeficientes angulares das equações da reta de cada curva analítica são apresentados na Tabela 12, a seguir:

Tabela 12-Coeficientes angulares das curvas analíticas de calibração de soluções padrão de dipirona para avaliação da repetitividade do método proposto.

Curva Analítica		
Data do Experimento	($\Delta A = aC + b$)	Coeficiente Angular (a)
28/05/2011	CA1	0,0032 ($\pm 0,0001$)
30/05/2011	CA2	0,0032 ($\pm 0,0001$)
01/06/2011	CA3	0,0032 ($\pm 0,0003$)
14/06/2011	CA4	0,0033 ($\pm 0,0002$)
16/06/2011	CA5	0,0032 ($\pm 0,0003$)

Os coeficientes angulares das equações da reta de cada curva analítica são relacionados através da Figura 24.

Figura 24 - Comparação da sensibilidade das curvas analíticas construídas em dias distintos.



Conhecendo-se as curvas analíticas de calibração de dipirona, calculou-se o desvio padrão relativo (RSD) ou, como também conhecido, coeficiente de variação (v), encontrando-se o valor de 1,4 %. O resultado do RSD ficou abaixo do limite considerado como aceitável (até 20%) (GUILHEN, *et al.*, 2010). O baixo valor do desvio padrão relativo encontrado demonstra que as inclinações das curvas analíticas não são significativamente distintas, revelando ainda que a sensibilidade do método proposto não é afetada ao se executar análises em dias diferentes e que o método revela uma boa repetitividade.

5.2.4 Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

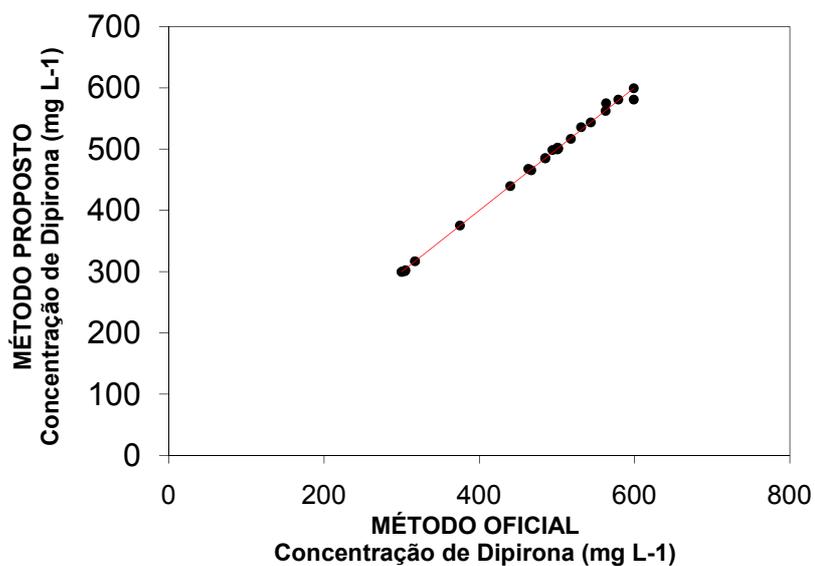
O LD e o LQ do método proposto foi de 2,46 mg L⁻¹ e 8,21 mg L⁻¹, respectivamente. Indicando uma boa sensibilidade analítica do método desenvolvido.

5.2.5 Método Oficial x Método Proposto

Um eixo de regressão gráfica pode ser utilizado para avaliar/comparar os resultados de amostras obtidos pelo novo método proposto, e outro eixo para os resultados obtidos através da aplicação do método de referência (MILLER; MILLER, 2005).

Assim, visando apresentar a correlação entre os resultados obtidos através do Método Oficial e pelo Método Proposto foi contruída a seguinte reta de regressão (Figura 25) para comparar os métodos analíticos utilizadas para quantificar a dipirona em medicamentos. Ressalta-se que cada ponto no gráfico representa, portanto, uma única amostra analisada por dois métodos distintos. No eixo das abscissas plotou-se os resultados das amostras obtidos através do Método Oficial e no eixo das ordenadas os resultados obtidos através do Método Proposto.

Figura 25 - Comparação de métodos analíticos – Oficial e Proposto para



quantificação de dipirona.

A equação da reta de regressão gerada - Figura 26 é apresentada a seguir:

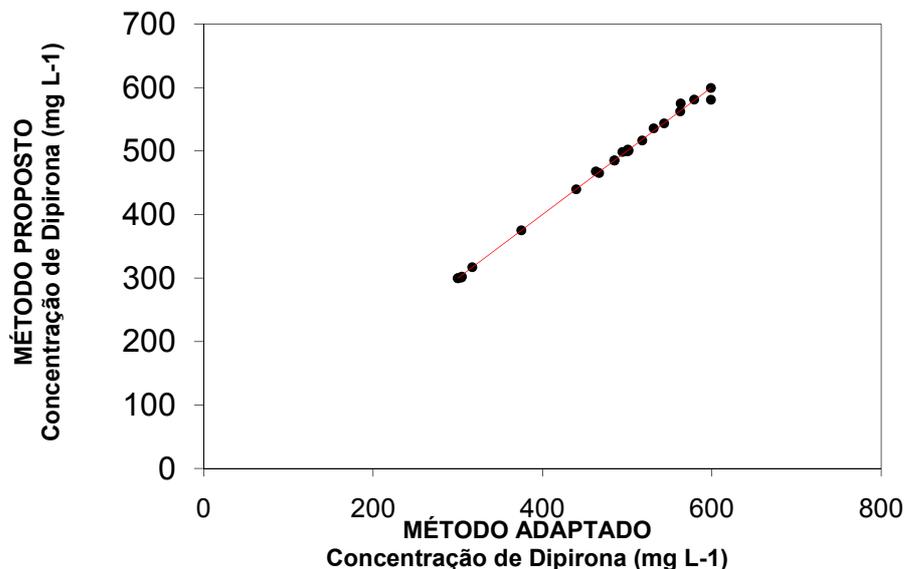
$$Y = 0,9760 (\pm 0,0336) C + 11,9651 (\pm 16,1334) \quad r = 0,9967 \quad \text{Eq. 04}$$

Segundo Miller & Miller (2005) a reta de regressão ideal para comparação de métodos distintos é obtida quando o valor do coeficiente angular (a) e o coeficiente de correlação (r) estão próximos a 1 e o coeficiente linear apresenta-se próximo a zero (0), demonstrando que a reta passa pela origem. Assim, destaca-se que a equação da reta

(Eq. 04) apresentada, demonstra boa concordância entre os resultados obtidos para o método Oficial e Proposto para amostras de medicamentos de dipirona.

Para a avaliação de resultados obtidos através do método Proposto e o Adaptado contruiu-se a seguinte reta de regressão (Figura 26), pretendendo-se comparar os métodos analíticos utilizados para quantificar a dipirona em medicamentos. Ressalta-se que cada ponto no gráfico representa, portanto, uma única amostra analisada por dois métodos distintos. Destaca-se que no eixo das abscissas plotou-se os resultados das amostras obtidos através do Método Adaptado e no eixo das ordenadas os resultados obtidos através do Método Proposto.

Figura 26 - Comparação de métodos analíticos – Adaptado e Proposto para quantificação de dipirona.



A equação da reta de regressão gerada é apresentada a seguir:

$$Y = 1,0021 (\pm 0,0208) C - 0,9438 (\pm 9,9892) \quad r = 0,9988 \quad \text{Eq. 05}$$

Observando a equação da reta acima (Eq. 05), destaca-se que, assim como para os resultados obtidos através do Método Oficial, o Método Proposto apresenta boa concordância entre os resultados obtidos para amostras de medicamentos de dipirona utilizando-se o Método Adaptado.

5.3 Curva Analítica para Quantificação de Dipirona

Após a otimização das condições experimentais (Tabela 08) e validação do Método Proposto, iniciou-se a avaliação quantitativa da faixa de trabalho onde se pode observar uma relação linear obtida entre o valor de absorbância e a concentração de soluções padrão de dipirona. Para isso, construiu-se uma curva de calibração utilizando o método dos mínimos quadrados.

A curva analítica foi construída a partir de soluções do padrão de dipirona com concentração correspondente a 5,0; 10,0; 25,0; 50,0; 75,0; 100,0; 125,0; 150,0; 175,0; 200,0; 225,0; 250,0 mg L⁻¹, preparados a partir de diluição de uma solução estoque contendo 500 mg L⁻¹ do analito de interesse. Cada ponto da curva representa à média de cinco repetições das leituras de variação de absorbância (n=5) de cada padrão injetado ao sistema.

Construiu-se a curva analítica da dipirona representando os valores de $\Delta A_{545\text{nm}}$ (variação de absorbância no $\lambda = 545$ nm) em função da concentração de dipirona, segundo os dados da Tabela 13.

Tabela 13 - Valores da variação de absorbância obtidos em 545 nm para a construção da curva analítica para determinação de dipirona através do método proposto.

[DIPIRONA] mg L ⁻¹	$\Delta A_{545\text{ nm}} \pm \text{SD}^a$	RSD ^b (%)
5,0	0,024 ± 0,001	0,1
10,0	0,039 ± 0,001	0,1
25,0	0,074 ± 0,003	1,0

50,0	0,146 ± 0,003	1,3
75,0	0,214 ± 0,002	0,9
100,0	0,285 ± 0,001	0,5
125,0	0,354 ± 0,001	0,3
150,0	0,423 ± 0,003	0,7
175,0	0,494 ± 0,004	0,9
200,0	0,559 ± 0,002	0,4
225,0	0,629 ± 0,002	0,3
250,0	0,695 ± 0,003	0,5

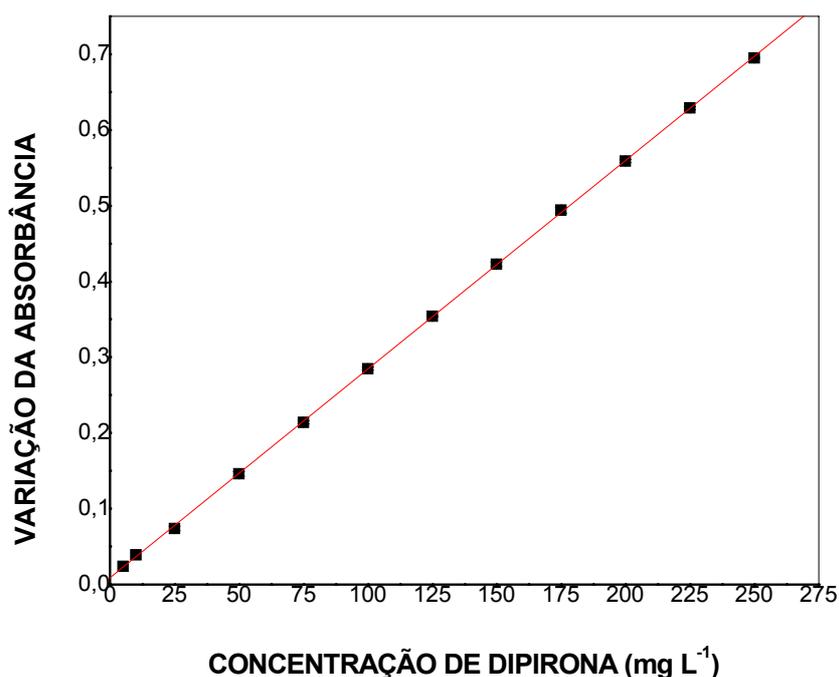
a ± desvio padrão de 5 medidas da variação de absorvância; b Desvio Padrão Relativo

Uma relação linear foi observada na faixa de concentração de 5,0 a 250 mg L⁻¹. A Figura 27, a seguir, apresenta a curva analítica obtida para os dados da Tabela 13. A equação matemática (Eq. 06) que descreve a relação linear existente entre a variação da absorvância em 545nm (A_{545nm}) e concentração de dipirona é:

$$\Delta A_{545nm} = 0,0028(\pm 0,0001)C + 0,0091(\pm 0,0023) \quad \text{Eq. 06}$$

Onde ΔA = a variação de absorvância registrada durante as análises das soluções do padrão/amostras; C = concentração de dipirona em mg L⁻¹.

Figura 27 - Curva analítica para quantificação da dipirona.



A curva de calibração analítica (Figura 27) apresentou linearidade no intervalo de concentrações de dipirona entre 5,0 e 250,0 mg L⁻¹, com coeficiente de correlação 0,99996. Todos os pontos grafados foram expressos como médias de quintuplicatas. A frequência analítica foi 90 determinações h⁻¹.

Uma das vantagens do método proposto reside na ampla faixa de concentrações de dipirona sem que haja perda de linearidade, ou seja, na larga faixa dinâmica da curva de calibração sem perda de linearidade, visto que os medicamentos comercializados possuem elevadas concentrações do princípio ativo (dipirona), o que, por conseguinte elimina etapas exaustivas de diluições, ocasionando assim maior precisão.

Assim, diante do interesse em trabalhar com poucas diluições e/ou massa muito pequenas no processo de tratamento das amostras, tentou-se inicialmente trabalhar com concentrações superiores a 250 mg L⁻¹ de dipirona, contudo, observou-se grande instabilidade no sinal gerado, o que proporcionou elevada incerteza na medição e perda de linearidade.

5.4 Equações Utilizadas para Quantificação da Dipirona em Amostras Reais pelo Método Oficial, Adaptado e Proposto

Para quantificação da dipirona em amostras reais através do método Oficial, Adaptado e Proposto, utilizou-se as equações descritas, a seguir.

5.4.1 Metodologia Oficial

- **Comprimidos/Matéria Prima**

Para determinação da quantidade de dipirona em determinado medicamento, sugere-se, então, a seguinte equação:

$$\text{mg(D)} = V(I_2) \times 17,57 \quad \text{Eq. 07}$$

Onde, mg(D) = massa (em miligrama - mg) de dipirona na massa de medicamento pesada para realizar a titulação; V(I₂)= volume gasto da solução de iodo na titulação (em mililitro - mL).

No entanto, a massa de dipirona está relacionada à massa pesada e utilizada para realizar a titulação (~0,3500 g de medicamento), para conhecer a quantidade exata de dipirona no medicamento, deve-se utilizar a massa média dos 20 comprimidos pesados. Assim, aponta-se a Equação 08, a seguir:

$$\text{mg(D)}_R = [\bar{m} (\text{MED}) \times \text{mg(D)}] / m_p(\text{D}) \quad \text{Eq. 08}$$

\bar{m}

Onde, $mg(D)_R$ = massa final (em miligrama) de dipirona no medicamento; (MED) = massa média (em grama) dos 20 comprimidos pesados; $m_P(D)$ = massa pesada e utilizada da amostra de medicamento para realizar a titulação (deve ser ~ 0,3500 g de medicamento).

- **Solução Oral**

Para determinação da quantidade de dipirona em determinado medicamento, sugere-se, então, a seguinte equação:

$$mg(D) = [V(I_2) \times 17,57] \times 10 \quad \text{Eq. 09}$$

Onde, $mg(D)$ = massa (em miligrama - mg) de dipirona na massa de medicamento pesada para realizar a titulação; $V(I_2)$ = volume gasto da solução de iodo na titulação (em mililitro - mL).

No entanto, a massa de dipirona está relacionada à massa pesada e utilizada para realizar a titulação (~2,5000 g de medicamento), para conhecer a quantidade exata de dipirona no medicamento, deve-se utilizar a massa encontrada ao adicionar 1,00 mL da solução oral em um becker na balança analítica. Assim, aponta-se a equação 10.

$$mg(D)_R = [m_P(D) \times mg(D)] / m_{1mL}(MED) \quad \text{Eq. 10}$$

Onde, $mg(D)_R$ = massa final (em miligrama) de dipirona no medicamento; $m_P(D)$ = massa pesada do medicamento para preparar a solução inicial (diluição medicamento); $m_{1mL}(MED)$ = massa obtida ao pesar 1 mL de medicamento (em grama).

5.4.2 Metodologia Adaptada descrita na Literatura (PESTANA, *et al.*, 2008)

- **Comprimidos/Matéria Prima**

Para determinação da quantidade de dipirona em determinado medicamento, sugere-se, então, a seguinte equação:

$$mg(D) = V(IO_3^-) \times 15,8112 \quad \text{Eq.11}$$

Onde, $mg(D)$ = massa (em miligrama) de dipirona na massa de medicamento pesada para realizar a titulação; $V(IO_3^-)$ = volume gasto da solução de iodato de potássio na titulação (em mililitro - mL).

No entanto, a massa de dipirona está relacionada à massa pesada e utilizada para realizar a titulação (~ 0,1250 g de medicamento), para conhecer a quantidade de dipirona no medicamento, deve-se utilizar a massa média dos 20 comprimidos/cápsulas pesados. Assim, aponta-se a equação 12:

$$\text{mg(D)}_R = [\bar{m}(\text{MED}) \times \text{mg(D)}] / m_P(\text{D}) \quad \text{Eq. 12}$$

Onde, mg(D)_R = massa (em miligrama - mg) de dipirona na massa de medicamento pesada para realizar a titulação; $\bar{m}(\text{MED})$ = massa média (em grama) dos 20 comprimidos pesados; mg(D) = massa (em miligrama) de dipirona na massa de medicamento pesada para realizar a titulação; $m_P(\text{D})$ = massa pesada e utilizada da amostra de (que deve ser, ~ 0,1250 g de medicamento).

- **Solução Oral**

Para determinação da quantidade de dipirona em determinado medicamento, sugere-se, então, a seguinte equação:

$$\text{mg(D)} = [V(\text{IO}_3^-) \times 15,8112] \times 10 \quad \text{Eq. 13}$$

Onde, mg(D) = massa (em miligrama - mg) de dipirona na massa de medicamento pesada para realizar a titulação; $V(\text{I}_2)$ = volume gasto da solução de iodo na titulação (em mililitro - mL).

No entanto, a massa de dipirona está relacionada à massa pesada e utilizada (~ 1,2500 g de medicamento), para conhecer a quantidade final de dipirona no medicamento, deve-se utilizar a massa encontrada ao adicionar 1,00 mL da solução oral em becker na balança analítica. Assim, aponta-se a equação 14, a seguir:

$$\text{mg(D)}_R = [m_P(\text{D}) \times \text{mg(D)}] / m_{1\text{mL}}(\text{MED}) \quad \text{Eq. 14}$$

Onde, mg(D)_R = massa final (em miligrama) de dipirona no medicamento; $m_P(\text{D})$ = massa pesada do medicamento para preparar a solução inicial (diluição medicamento); $m_{1\text{mL}}(\text{MED})$ = massa obtida ao pesar 1 mL de medicamento (em grama).

5.4.3 Metodologia Proposta

Após a construção da curva de calibração das soluções padrão de dipirona, iniciou-se a análise das amostras de medicamentos. Os procedimentos necessários para preparação das amostras foram realizados conforme descrito no item 4.3.3. Assim, apresenta-se a seguir, as equações utilizadas para quantificar a dipirona através da metodologia proposta nesse estudo.

- **Comprimidos/Matéria Prima**

A partir do conhecimento da variação de absorvância obtida para cada amostra (3 injeções/amostra), calculou-se a concentração de dipirona, através da curva de calibração apresentada no item 5.3. Ou seja, baseando-se na curva de calibração, para determinação da concentração da solução contendo de dipirona, encontrou-se, então, a seguinte equação:

$$C(D) = (\Delta A - 0,0091)/0,0028 \quad \text{Eq. 15}$$

Onde, C(D) = concentração de dipirona (mg/L); ΔA = Variação de absorvância.

A concentração de dipirona (C(D)) obtida através da equação 15, relaciona-se a com a concentração da solução de 14 mL do medicamento de dipirona, preparada a partir da diluição de 2,1 mL da solução estoque.

Assim, através da Eq. 16, calculou-se a concentração de dipirona (mg L^{-1}) na solução estoque (50,0 mL), preparada a partir de uma determinada massa de comprimido pesada e dissolvida no volume de 50,0 mL do ácido sulfúrico, conforme descrito no item 4.3.3.

$$C(D)_{\text{real}} = (14 * C(D))/2,1 \quad \text{Eq. 16}$$

Onde, $C(D)_{\text{real}}$ = concentração real da solução estoque preparada (mg/L).

Obtida a concentração real da solução estoque de dipirona preparada de início, encontrou-se através da equação conhecida e descrita a seguir da concentração de solução, a massa real do analito (dipirona) existente na massa pesada e utilizada para preparar uma solução estoque de 50,0 mL.

$$\text{mg(D)}_{\text{ESTOQUE}} = C(D)_{\text{real}} * V_{\text{SOLUÇÃO}} \quad \text{mg(D)}_{\text{ESTOQUE}} = C(D)_{\text{real}} * 0,05 \quad \text{Eq. 17}$$

Onde, $\text{mg(D)}_{\text{ESTOQUE}}$ = massa (em mg) de dipirona existente na massa de medicamento utilizada para preparar solução estoque; $V_{\text{SOLUÇÃO}}$ = Volume da solução estoque preparada (50,0 mL).

Encontrada a massa do analito através da Eq. 17 acima, relacionou-se essa com a massa do medicamento utilizada para preparar a solução estoque, através da Equação 18 a seguir:

$$m(D)_{1\text{mg}} = (\text{mg(D)}_{\text{ESTOQUE}} / m(M)_{\text{ESTOQUE}}) \quad \text{Eq. 18}$$

Onde, $m(D)_{1mg}$ = massa de dipirona em 1,0 g de medicamento (mg); $mg(D)_{ESTOQUE}$ = massa (em mg) de dipirona existente na massa de medicamento utilizada para preparar solução estoque; $m(M)_{ESTOQUE}$ = massa (em g) pesada de medicamento utilizada para preparar solução estoque.

Assim, obtêm-se uma relação massa/massa (m/m) entre a massa de medicamento e a massa de dipirona existente no medicamento utilizada para preparo da solução estoque. Onde,

1,0 g de medicamento relaciona-se com uma massa ($m(D)_{1mg}$) de dipirona (mg)

Por fim, relacionou-se a massa de dipirona em 1,0 g de medicamento ($m(D)_{1mg}$), com a massa média dos 20 comprimidos do medicamento pesados individualmente (Tabela 14), através da equação Eq. 19, onde se encontrou a massa real de dipirona no comprimido do medicamento.

$$m(D)_{R20} = m(D)_{1mg} * m_{m(20)} \quad \text{Eq. 19}$$

Onde, $m(D)_{R20}$ = massa real de dipirona relacionando-se com a massa média de 20 comprimidos; $m(D)_{1mg}$ = massa de dipirona em 1,0 g de medicamento (mg); $m_{m(20)}$ = massa média (em g) dos 20 comprimidos.

- **Solução Oral**

A partir do conhecimento da média de variação de absorvância obtida para cada amostra (5 injeções/amostra), calculou-se a concentração da segunda diluição da solução da amostra, através da curva de calibração apresentada no item 5.3 ou ainda utilizando-se a equação 06, e encontrou-se a concentração (em $mg L^{-1}$) da solução de medicamento (amostra) contendo dipirona. Transformou-se a unidade de concentração obtida na unidade de concentração em $mg mL^{-1}$.

Em seguida, utilizou-se a equação 20, abaixo para encontrar a concentração da primeira diluição.

$$C(D)_1 = [C(D)_{ECA} \times 14] / 1,05 \quad \text{Eq.20}$$

Onde $C(D)_1$ corresponde a concentração da solução do medicamento de dipirona na primeira diluição; $C(D)_{ECA}$ corresponde a concentração da solução de medicamento encontrada através da curva analítica (2ª diluição).

Em seguida, utilizou-se a equação 21, abaixo para encontrar a concentração real do medicamento.

$$C(D)_R = [C(D)_1 \times 50] / 0,1 \quad \text{Eq. 21}$$

Onde $C(D)_R$ corresponde a concentração da solução do medicamento de dipirona real no frasco; $C(D)_1$ corresponde a concentração da solução do medicamento de dipirona na primeira diluição.

Assim, obtêm-se direto a quantidade de dipirona (mg) em cada mL da solução.

Para realização dos cálculos de quantificação da dipirona em amostras de medicamento, necessita-se conhecer a massa média dos comprimidos/cápsulas, bem como a densidade das soluções orais. Assim, apresentam-se nas Tabelas 14 e 15 a seguir, as informações supracitadas.

Tabela 14 - Tipo, forma, concentração de dipirona rotulada no medicamento (mg) e massa média de comprimidos/cápsulas.

TIPO	FORMA	MASSA DIPIRONA ROTULADA (mg)	AMOSTRA	MASSA MÉDIA (20 COMPRIMIDOS)	SD ^a
MAGISTRAL	CÁPSULA	500	1	0,6828	0,0086
		500	2	0,6012	0,0198
		250	3	0,3621	0,0166
		500	4	0,6123	0,0351
		500	5	0,6480	0,0206
		500	6	0,6044	0,0139
REFERÊNCIA	COMPRIMIDO	500	7	0,5281	0,0056
GENÉRICO		500	8	0,6234	0,0102
GENÉRICO		500	9	0,6226	0,0097
SIMILAR		500	10	0,5681	0,0061
SIMILAR		500	11	0,5991	0,0053
SIMILAR		500 (+65mg CAFEÍNA)	12	0,7192	0,0089
SIMILAR		500 (+65mg CAFEÍNA)	13	0,6585	0,0065
SIMILAR		300 (+35mg CITRATO DE ORFENADRINA + 50mg CAFEÍNA)	14	0,6656	0,0091
SIMILAR		300 (+30mg MUCATO DE ISOMEPTENO + 30mg CAFEÍNA)	15	0,7748	0,0280
SIMILAR		500 (+10mg CLORIDRATO DE ADIFENINA + 5mg CLORIDRATO DE PROMETAZINA)	16	0,7215	0,0113

a ± desvio padrão de 20 medidas de massa de cápsulas/comprimidos.

Tabela 15 - Tipo, forma, concentração de dipirona rotulada no medicamento (mg mL^{-1}) e densidade de cada solução oral.

TIPO	FORMA	CONCENTRAÇÃO DIPIRONA		DENSIDADE (g mL^{-1})	SD ^a
		ROTULADA (mg mL^{-1})	AMOSTRA		
REFERÊNCIA	SOLUÇÃO ORAL	500	17	1,1272	0,0026
SIMILAR		500	18	1,1848	0,0101
SIMILAR		500	19	1,1519	0,0065
SIMILAR		500	20	1,1380	0,0036
SIMILAR		500	21	1,1468	0,0059
GENÉRICO		500	22	1,1723	0,0022
GENÉRICO		500	23	1,1677	0,0066
SIMILAR		300 (+50 mg CITRATO DE ORFENADRINA + 35 mg CAFEÍNA)	24	1,1237	0,0061
SIMILAR		300 (+30mg MUCATO DE ISOMEPTENO + 30mg CAFEÍNA)	25	1,1529	0,0042
SIMILAR		500	26	1,1584	0,0021

a \pm desvio padrão de 3 medidas de massa de 1 mL de solução oral de medicamento.

5.5 Resultados da Quantificação de Dipirona em Amostras de Medicamento

5.5.1 Resultados Obtidos através dos 3 Métodos Utilizados para Quantificar a Dipirona em Soluções do Padrão

Após a realização de todas as análises e os respectivos cálculos, apresentam-se, através da Tabela 16 a seguir, os resultados obtidos através do Método Oficial, Adaptado e Proposto para as soluções contendo apenas o padrão de dipirona.

Tabela 16 - Resultados do padrão obtidos através do método oficial, adaptado e proposto.

MÉTODO	m_{PESADA}	$m_{\text{ENCONTRADA}}$	CV (%)	ER (%)
	DIPIRONA (g)	DIPIRONA (g) \pm SD ^a		
OFICIAL	0,3503	0,3508 \pm 0,0005	0,2	0,1
	0,3501	0,3505 \pm 0,0009	0,3	0,1
	0,1505	0,1491 \pm 0,0016	1,1	-0,9
ADAPTADO	0,1505	0,1507 \pm 0,0004	0,3	0,1
	0,1504	0,1508 \pm 0,0005	0,3	0,3
	0,1501	0,1509 \pm 0,0001	0,1	0,5
PROPOSTO	0,0254	0,0258 \pm 0,0001	0,4	0,1
	0,0251	0,0249 \pm 0,0001	0,4	- 0,1
	0,0252	0,0253 \pm 0,0001	0,4	0,1

a \pm desvio padrão de medidas de massa de dipirona encontradas em análises realizadas em TRIPLICATA pelo Método Oficial, Adaptado e Proposto .

5.5.2 Resultados Obtidos para as Amostras através dos 3 Métodos Utilizados para Quantificar a Dipirona

A quantificação de dipirona em cada amostra de medicamento foi realizada em 3 dias distintos através de cada método - Oficial, Adaptado e Proposto, estando todos os resultados disponíveis no Apêndice A. Como valor definitivo, a ser adotado e apresentado neste tópico para cada amostra, optou-se por aquele resultado que dentro dos 3 dias, apresentou-se mais próximo ao valor rotulado de dipirona em cada medicamento. Assim, após a realização de todas as análises e os respectivos cálculos, apresentam-se, através da Tabela 17 a seguir, os resultados obtidos através do Método Oficial, Adaptado e Proposto para as 26 amostras analisadas.

Tabela 17 - Resultados obtidos para os métodos oficial, adaptado e proposto para quantificar a dipirona em amostras de medicamentos.

AMOSTRA	MASSA DIPIRONA				ER ¹ (%)	ER ² (%)
	VALOR ROTULADO (mg)	MÉTODO OFICIAL (mg) (n=3)	MÉTODO ADAPTADO (mg) (n=3)	MÉTODO PROPOSTO (mg) (n=3)		
1	500	565,1 ± 1,3	562,6 ± 0,5	562,5 ± 1,6	-0,5	-0,1
2	500	582,1 ± 0,5	598,9 ± 1,9	580,9 ± 0,6	-0,2	-3,1
3	250	310,5 ± 0,3	317,1 ± 0,5	317,0 ± 0,2	2,0	-0,1
4	500	580,8 ± 0,9	579,1 ± 0,5	581,0 ± 0,2	0,1	0,3
5	500	599,9 ± 1,0	598,9 ± 0,5	599,4 ± 0,1	-0,1	0,1
6	500	574,5 ± 1,0	563,2 ± 0,7	575,0 ± 1,1	0,1	2,1
7	500	500,5 ± 0,8	500,2 ± 0,6	501,3 ± 0,5	0,2	0,2
8	500	500,9 ± 2,3	500,1 ± 1,2	500,4 ± 1,1	-0,1	-0,1
9	500	536,1 ± 1,4	531,2 ± 1,1	535,7 ± 0,5	-0,1	0,8
10	500	484,9 ± 1,1	484,9 ± 0,5	484,9 ± 0,4	0,1	0,1
11	500	500,0 ± 0,7	484,8 ± 0,8	485,3 ± 1,9	-3,0	0,1
12	500 (+65mg CAFEÍNA)	540,3 ± 2,5	543,6 ± 0,7	543,6 ± 1,5	0,6	0,1
13	500 (+65mg CAFEÍNA)	500,0 ± 1,6	500,4 ± 0,3	499,7 ± 0,2	-0,1	-0,1

Tabela 17 – Continuação de Resultados obtidos para os Métodos Oficial, Adaptado e Proposto para quantificar a dipirona em Amostras de Medicamentos

AMOSTRA	MASSA DIPIRONA				ER ¹ (%)	ER ² (%)
	VALOR RODULADO (mg)	MÉTODO OFICIAL (mg) (n=3)	MÉTODO ADAPTADO (mg) (n=3)	MÉTODO PROPOSTO (mg)		
14	300 (+35mg CITRATO DE ORFENADRINA + 50mg CAFEÍNA)	275,9 ± 0,7	300,2 ± 0,5	299,7 ± 1,0	7,9	-0,2
15	300 (+30mg MUCATO DE ISOMEPTENO + 30mg CAFEÍNA)	370,0 ± 0,5	375,1 ± 0,5	375,4 ± 0,4	1,4	0,1
16	500 (+10mg CLORIDRATO DE ADIFENINA + 5mg CLORIDRATO DE PROMETAZINA)	516,5 ± 0,7	517,8 ± 0,7	516,7 ± 0,5	0,1	-0,2
17	500	439,4 ± 0,6	439,9 ± 1,0	439,7 ± 0,3	0,1	-0,1
18	500	500,0 ± 2,4	500,9 ± 0,9	502,4 ± 1,4	0,5	0,3
19	500	498,9 ± 2,4	494,3 ± 1,1	498,5 ± 0,4	-0,1	0,8
20	500	469,1 ± 2,3	466,9 ± 0,4	465,4 ± 1,5	-0,8	-0,3
21	500	324,6 ± 2,3	304,7 ± 0,9	302,3 ± 1,3	-7,4	-0,8
22	500	492,9 ± 2,3	501,7 ± 0,5	500,8 ± 1,3	1,5	-0,2
23	500	501,7 ± 2,4	500,2 ± 0,8	500,1 ± 1,3	-0,3	-0,1
24	300 (+50 mg CITRATO DE ORFENADRINA + 35 mg CAFEÍNA)	285,6 ± 2,3	300,0 ± 0,8	299,7 ± 0,7	4,7	-0,1
25	300 (+30mg MUCATO DE ISOMEPTENO + 30mg CAFEÍNA)	302,4 ± 2,3	304,2 ± 0,8	300,8 ± 1,3	-0,5	-1,1
26	500	464,9 ± 2,0	463,1 ± 0,6	467,9 ± 1,4	-0,6	1,0

ER¹ = Erro relativo referente ao resultado obtido pelo Método Proposto e Oficial; ER² = Erro relativo referente ao resultado obtido pelo Método Proposto e Adaptado

Segundo a Farmacopéia Brasileira (2010) os medicamentos contendo como princípio ativo a dipirona, deve conter no mínimo, 95 % e, no máximo, 105 % da quantidade declarada de $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S.H_2O$, quando na forma de comprimido. E, para amostras de solução oral, o medicamento deve conter, no mínimo, 95 % e, no máximo 110 % da quantidade rotulada de $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S.H_2O$.

Assim, dentre as amostras utilizadas espera-se como teor mínimo e máximo, os valores apresentados nas Tabelas 18 e 19:

Tabela 18 - Teor mínimo e máximo esperado de medicamentos de dipirona na forma de comprimido/cápsula, baseando-se na quantidade declarada do princípio ativo (mg).

TEOR ROTULADO (mg)	TEOR MÍNIMO (mg)	TEOR MÁXIMO (mg)
250	237,5	262,5
300	285,0	315,0
500	475,0	525,0

Tabela 19 - Teor mínimo e máximo esperado de medicamentos de dipirona na forma de solução oral, baseando-se na quantidade declarada do princípio ativo ($mg mL^{-1}$).

TEOR ROTULADO ($mg mL^{-1}$)	TEOR MÍNIMO ($mg mL^{-1}$)	TEOR MÁXIMO ($mg mL^{-1}$)
300	285,0	330,0
500	475,0	550,0

Observando-se os resultados do padrão e das amostras dispostos na Tabela 12 e 13, e considerando os valores mínimos e máximos da quantidade rotulada que o medicamento de dipirona deve conter avalia-se que:

- O erro entre as massas de padrão de dipirona com as massas encontradas utilizando-se o Método Oficial, Adaptado e Proposto, variou de -0,9 a 0,5%.
- Observa-se que o padrão utilizado apresenta uma pureza de aproximadamente 100%.
- Todas as amostras de medicamentos oriundos de farmácia de manipulação apresentaram-se em desconformidade com a Farmacopéia Brasileira (2010). Observa-se que as concentrações estiveram bem acima do valor máximo estipulado para as análises realizadas pelo método Oficial, Adaptado e pelo método Proposto;

- Dentre os medicamentos industriais na forma de comprimidos oriundos aleatoriamente no comércio de Maceió/AL, as amostras números 09, 12 e 15 foram as únicas que apresentaram-se em desconformidade com o teor máximo estabelecido pela Farmacopéia Brasileira (2010) para as análises realizadas pelo método Oficial, Adaptado e pelo método Proposto;
- Para os medicamentos na forma de solução oral, destaca-se que as amostras números 17, 20, 21 e 26 apresentaram-se em desconformidade com o teor mínimo estabelecido pela Farmacopéia Brasileira (2010) para as análises realizadas pelo método Oficial, Adaptado e pelo método Proposto;
- E, ainda para os medicamentos na forma de solução oral, destaca-se que a amostra número 24 apresentou-se no limite com o teor mínimo estabelecido pela Farmacopéia Brasileira (2010) para a análise realizada pelo método Oficial, considerando o erro que pode ser mais ou menos 2,3. Assim, considerando-se menos 2,3 esse medicamento pode estar em desconformidade baseando-se na metodologia supracitada. No entanto, destaca-se que essa amostra encontra-se em conformidade quando analisada pelo método Adaptado e pelo método Proposto.
- Os resultados obtidos através do Método Proposto apresentaram boa concordância com resultados obtidos a partir do Método Oficial e/ou Adaptado. Não sendo observada interferência de nenhuma das substâncias coadjuvantes existentes, pelo menos nas concentrações existentes nos medicamentos avaliados, conforme pode ser observado na Tabela 20, abaixo.

Tabela 20 - Valores rotulados de dipirona e de substâncias coadjuvantes em amostras de medicamentos.

AMOSTRA	VALOR ROTULADO
12	500 mg DIPIRONA + 65 mg CAFEÍNA
13	500 mg DIPIRONA + 65 mg CAFEÍNA
14	300 mg DIPIRONA + 35 mg CITRATO DE ORFENADRINA + 50 mg CAFEÍNA
15	300 mg DIPIRONA + 30 mg MUCATO DE ISOMEPTENO + 30 mg CAFEÍNA
16	500 mg DIPIRONA + 10 mg CLORIDRATO DE ADIFENINA + 5 mg CLORIDRATO DE PROMETAZINA
24	300 mg DIPIRONA + 50 mg CITRATO DE ORFENADRINA + 35 mg CAFEÍNA
25	300 mg DIPIRONA + 30 mg MUCATO DE ISOMEPTENO + 30 mg CAFEÍNA

5.6 Interferentes

Grande parte das preparações farmacêuticas existentes no mercado que contém o princípio ativo dipirona são constituídas apenas pela dipirona e excipientes que normalmente, com poucas exceções, são relativamente inertes. Muito embora nesses casos não se tenha observado interferência sobre o sinal analítico, avaliou-se a possível interferência de espécies químicas existente nas formulações farmacêuticas que continham algumas espécies coadjuvantes através do Método Oficial, Adaptado e Proposto.

Dentre as substâncias coadjuvantes mais comuns temos a cafeína, citrato de orfenadrina, cloridrato de adifenina, cloridrato de prometazina e mucato de isomepteno. Dentre estas, resolveu-se avaliar a possível interferência da cafeína, levando-se em conta que a maioria dos medicamentos com coadjuvante possuem essa substância. Para a realização do estudo de interferência da cafeína partiu-se de padrões de dipirona e de cafeína.

Como a maioria dos medicamentos comercializados contendo 500 mg de dipirona possuem em média, 65 mg de cafeína, preparou-se amostras sintéticas simulando a mesma proporção em massa do coadjuvante para avaliação da possível interferência da cafeína sobre o sinal analítico, utilizando-se os métodos apresentados trabalho. Os resultados encontrados são sumarizados nas Tabelas 21 e 22.

Tabela 21 - Resultados do padrão – dipirona (na presença do padrão de cafeína) obtidos através do método oficial, adaptado.

MÉTODO	m_{PESADA}	m_{PESADA}	$m_{\text{ENCONTRADA}}$		
	DIPIRONA (g)	CAFEÍNA (g)	DIPIRONA (g) \pm SD ^a	CV (%)	ER (%)
OFICIAL	0,3505	0,0453	0,3496 \pm 0,0005	0,2	0,1
	0,3500	0,0452	0,3514 \pm 0,0009	0,2	-0,1
ADAPTADO	0,1507	0,0191	0,1504 \pm 0,0004	0,3	-0,1
	0,1503	0,0195	0,1505 \pm 0,0005	0,3	0,1

a \pm Média de 3 medições;

Os resultados obtidos para as soluções contendo apenas o padrão de dipirona, bem como contendo dipirona juntamente com o padrão de cafeína através apenas do Método Proposto são apresentados na Tabela 22.

Tabela 22 - Resultados do padrão – dipirona (na presença do padrão de cafeína) obtidos através do método proposto.

Soluções	Concentração		
	DIPIRONA encontrada (mg L ⁻¹) ± SD ^a	CV (%)	ER (%)
1	74,5 ± 0,2	0,3	- 0,7
2	75,1 ± 0,4	0,5	0,1
3	74,8 ± 0,3	0,4	-0,3
4	75,3 ± 0,6	0,8	0,4
1	75,4 ± 0,2	0,2	0,5
2	74,8 ± 0,3	0,5	-0,2
3	75,1 ± 0,5	0,7	0,1
4	74,4 ± 0,2	0,3	-0,8

a ± Média de 3 medições;

1 - Apenas solução padrão de dipirona 75 mg L⁻¹;

2 - Solução padrão de dipirona 75 mg L⁻¹ + Solução padrão de cafeína 10 mg L⁻¹;

3 - Solução padrão de dipirona 75 mg L⁻¹ + Solução padrão de cafeína 75 mg L⁻¹;

4 - Solução padrão de dipirona 75 mg L⁻¹ + Solução padrão de cafeína 150 mg L⁻¹.

Observando-se os resultados para quantificação de dipirona obtidos pelo Método Proposto, conclui-se que a cafeína não apresenta interferência significativa ao nível de concentração estudada. Muito embora a cafeína seja um dos coadjuvantes principais, torna-se importante a realização de estudos de interferência para outras substâncias.

5.7 Frequência de Análise e Consumo de Reagentes

O tempo de análise de cada amostra – tempo entre a injeção e retorno a linha base, de cada injeção de amostra no sistema é aproximadamente 45 segundos, o que possibilita uma frequência de análise igual a 90 det h⁻¹.

Para cada reagente utilizado – solução de ácido sulfúrico (solução transportadora) e permanganato de potássio (reagente), utilizou-se a cada análise de amostra, em média 1,8 mL de solução, sendo o consumo em uma hora ininterrupta de análise de 168,0 mL de cada solução supracitada, o que corresponde a massa de 8,232 g de H₂SO₄ e 0,0265 g de KMnO₄.

5.8 Vantagens e Desvantagens Associadas ao Método Oficial, Adaptado e Proposto

Comparando-se a metodologia proposta com outros métodos executados nesse estudo, observa-se que:

Em relação à metodologia Oficial descrita na Farmacopéia Brasileira (2010), têm-se algumas considerações a serem feitas:

1. Ressalta-se, inicialmente, o difícil preparo da solução recomendada pelo método oficial, visto que a solução de iodo é altamente instável, sendo necessária sua preparação, padronização e utilização no mesmo dia;
2. O método oficial sugere a padronização da solução de iodo com um padrão primário de arsênio, o qual é altamente tóxico, devendo seu uso ser consideravelmente limitado e reduzido;
3. Observa-se a freqüente dificuldade para visualização do ponto final da reação, pois o amido - indicador recomendado e utilizado para visualização do ponto de viragem da titulação, que se caracteriza pelo aparecimento da cor azul intensa, devido à complexação do amido com iodo, varia gradativamente, passando para coloração lilás e, em seguida, a rosa, deixando dúvidas sobre o momento exato da viragem. Assim, certamente, em algumas análises pode ter havido erros diante do estabelecimento do momento exato do ponto final da reação (PESTANA, *et al.*, 2008).

Essa problemática foi verificada não apenas neste estudo, mas também relatada em trabalhos dispostos na literatura, como no de Pestana e colaboradores (2008).

4. O método oficial não determina o tempo mínimo de persistência da coloração azul, demonstrando a subjetividade da finalização do procedimento.
5. O procedimento dessa titulação torna-se mais demorado que o normal diante das dúvidas e incertezas da finalização da reação. No presente estudo, o tempo da determinação de dipirona na amostra – procedimento realizado em triplicata foi de aproximadamente 30 minutos.

Ressalta-se que todos esses fatores agravam um laboratório de rotina e/ou controle de qualidade que possuem inúmeras amostras a serem analisadas em tempo rápido. Pois, ao recorrer ao método oficial o analista encontra soluções trabalhosas, instáveis, tóxicas, procedimentos demorados e ainda incerteza nas medições. Tudo isso desfavorece a utilização do procedimento oficial para quantificação do princípio ativo – dipirona, sendo necessário o estabelecimento de procedimentos rápidos, simples, repetitivo, reprodutivo, seguro e se possível que apresente baixo custo e gere baixa quantidade de resíduos.

Em relação ao método Adaptado descrito por Pestana e colaboradores (2008), têm-se algumas considerações a serem feitas:

1. Em relação ao Método Oficial, o Método Adaptado apresenta como vantagem, a geração *in situ* do iodo, não sendo necessário preparar, padronizar a solução de iodo que é bastante instável;
2. O titulante utilizado é uma solução de iodato de potássio, sendo esse reagente químico um padrão primário, não sendo necessário padronizar a solução de KIO_3 ;
3. Foi avaliado e estabelecido o tempo mínimo de persistência da coloração azul, o qual relaciona-se com a visualização do fim da reação - sendo necessário a persistência de no mínimo, 1 minuto. Tempo esse que o Método oficial não relata.
4. Uma desvantagem verificada foi o aumentando do tempo antes da análise, pois por esse método há a necessidade da pesagem de aproximadamente 1,0 g de iodeto de potássio para cada amostra;
5. Além disso, destaca-se ainda o tempo de análise que fica em torno de 20 minutos, realizando-se o procedimento em triplicata, que também desfavorece o uso dessa metodologia por um laboratório de rotina de análise e/ou controle de qualidade.

Em relação ao Método Proposto descrito e avaliado no presente estudo, utilizou-se a técnica de Análise por Injeção em Fluxo com detecção por Espectrometria de Absorção Molecular, FIA-EAM, ressalta-se alguns pontos:

1. Simplicidade de instrumentação;
Espectrofotometria na região UV/VIS do espectro eletromagnético é uma das técnicas analíticas mais empregadas, em função de robustez, custo relativamente baixo e grande número de aplicações desenvolvidas (ROCHA; TEIXEIRA, 2004).

2. Simplicidade de operação do sistema FIA, do Espectrofotômetro, bem como simples manipulação das amostras e reagentes, pelo operador. Visto que os reagentes utilizados não são perigosos ou tóxicos para o operador;
3. Economia no consumo de amostras e reagentes;
4. Análises rápidas e práticas – rápida por possibilitar a realização de até 90 determinações de dipirona em 1 hora de análises; prática devido à injeção das amostras no sistema FIA, não necessitando manipular reagentes e/ou amostras;
5. Técnica de elevada versatilidade;
6. Elevada repetitividade de sinal;
7. Boa sensibilidade, precisão e exatidão;
8. O procedimento proposto apresenta ainda como vantagem uma baixa susceptibilidade a interferentes, mesmo sendo o permanganato de potássio um forte agente oxidante.

Como desvantagem do Método Proposto destaca-se:

1. Em relação ao reagente utilizado, podemos dizer que o KMnO_4 não é um padrão primário, apresentando necessidade de padronização de suas soluções antes do uso, além disso, sua solução é pouco estável, assunto discutido no item 3.4.3.1. Assim, a partir da padronização da solução estoque de KMnO_4 , utilizou-se a mesma por aproximadamente 5 dias, sendo a mesma conservada em frasco escuro e em geladeira, para prevenir decomposição. Além disso, o KMnO_4 é um forte agente oxidante e como tal, não possui boa seletividade. Mas em situações onde não haja interferências significativas de substâncias redutoras, que possam estar presentes com o princípio ativo na forma de coadjuvantes ou excipientes, pode-se empregá-lo com sucesso, como demonstrado nesses estudos. O fato de o reagente possuir grande reatividade frente a substâncias redutoras, falsificações de medicamentos com essas substâncias não seriam facilmente detectada pelo método proposto, visto que a variação do sinal não seria apenas o resultado da reação entre o reagente e a dipirona, mas haveria também a contribuição da substância adulterante.

Apesar das desvantagens discutidas acima, o novo procedimento mostra-se bastante atraente com relação a sua aplicabilidade em laboratórios de rotina, seja no controle de matérias prima ou no controle de produto acabado, sendo fortemente recomendado para quantificar a dipirona.

Destaca-se ainda, que avaliando a Tabela 23, a seguir, a qual contém as figuras de mérito encontradas nesse estudo e as observadas em trabalhos disponíveis na literatura, todos utilizando FIA com detecção espectrofotométrica, o Método Proposto figura como uma alternativa bastante exeqüível, pois dentre alguns parâmetros destaca-se que o Método Proposto apresenta boa faixa linear entre 5,0 - 250,0 mg L⁻¹, baixo desvio padrão relativo e elevada frequência analítica de 90 det h⁻¹, baixa susceptibilidade de interferência, entre outras.

Tabela 23 - Figuras de méritos do método proposto e de publicações disponíveis na literatura.

Publicação	λ (nm)	Faixa Linear (mol L ⁻¹)	Coefficiente de Correlação (r)	LD (mol L ⁻¹)	LQ (mol L ⁻¹)	Faixa de Recuperação (%)	RSD	Nível de Confiança (%)	Frequência Analítica
MÉTODO PROPOSTO	545	0,14x10⁻⁴ – 0,71x 10⁻³	0,9999	0,77 x 10⁻⁵	0,23 x 10⁻⁴	91,4 - 110,7	1,4 %	95%	90 det h⁻¹
PEREIRA, et al., 2002	580	1,4 x 10 ⁻⁴ – 7,0 x 10 ⁻⁴	0,9998	6,0 x 10 ⁻⁵	-	98,8 e 101,0	< 0,45 % n=10	95%	60 det h ⁻¹
LIMA, et al, 2003	430	0,28 x10 ⁻⁴ – 11,4 x 10 ⁻⁴	0,9997	0,28 x 10 ⁻⁵	0,1 x 10 ⁻⁴	-	<0,12% (n = 20)	95%	50 det h ⁻¹
MARCOLINO-Jr., et al., 2005a	620	5,0 x 10 ⁻⁴ - 8,0 x 10 ⁻³	-	9,6x 10 ⁻⁵	-	95,3 – 101,0	1,7% (n=10)	95%	60 det h ⁻¹
WEINERT, et al., 2007a	510	1,45 x 10 ⁻⁶ - 2,90x10 ⁻⁵	0,9999	1,31 x 10 ⁻⁷	4,40x 10 ⁻⁷	97,3 – 103,0	2,0% (n = 20)	95%	72 amostra h ⁻¹
SUAREZ, et al., 2011	642	0,99x10 ⁻⁵ – 0,79 x 10 ⁻³	0,9992	0,79 x 10 ⁻⁵	-	98,0 – 103,6	< 0,4% (n=10)	95%	80 det h ⁻¹

- Não Informado

6 CONCLUSÃO

O desenvolvimento do novo procedimento para determinação direta de dipirona sódica em medicamentos, através da reação de oxidação-redução entre a dipirona e o permanganato de potássio em meio sulfúrico, empregando análise por injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica apresentou resultados de boa concordância com resultados obtidos através do Método Oficial e o Adaptado.

Observou-se que todas as amostras de medicamentos oriundos de farmácia de manipulação apresentaram-se em desconformidade com o valor máximo estabelecido pela Farmacopéia Brasileira (2010); Dentre os medicamentos industriais na forma de comprimidos obtidos aleatoriamente no comércio de Maceió/AL, as amostras números 09, 12 e 15 foram as únicas que apresentaram-se em desconformidade com o teor máximo estabelecido pela Farmacopéia Brasileira (2010); Para os medicamentos na forma de solução oral, destaca-se que as amostras números 17, 20, 21 e 26 apresentaram-se em desconformidade com o teor mínimo estabelecido pela Farmacopéia Brasileira (2010), sendo esses resultados observados para análises realizadas pelo método Oficial, Adaptado e pelo método Proposto.

Para validação do método desenvolvido foram avaliados alguns parâmetros importantes, tais como: seletividade - teste de adição e recuperação de padrão, linearidade, exatidão, precisão, repetitividade, limite de detecção e limite de quantificação.

Não foi observada interferência das substâncias coadjuvantes e/ou excipientes existente nas amostras de medicamentos avaliados para o Método Proposto. Nem mesmo quando realizado o estudo de interferente avaliando soluções padrão de dipirona na presença de cafeína (padrão).

Assim, a utilização do Método Proposto para a determinação de dipirona em formulações farmacêuticas (comprimidos e solução oral) foi realizada com sucesso, demonstrando seu potencial uso como uma alternativa simples, rápida, de baixo custo, alta frequência analítica (90 det h^{-1}), baixa quantidade de resíduos gerada e não envolvendo específicos ou complexos procedimentos de tratamento das amostras para quantificação da dipirona em relação aos métodos disponíveis na literatura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACAR, N.; ONUR, F.; Spectrophotometric simultaneous analysis of analgin-adamon mixture in injection preparations. **Analytical Letters**, v. 29, n. 5, p.763-773, 1996.
2. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **ANVISA**, 2001a. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/divulga/informes/dipirona.htm>. Acessado em 18/03/2011.
3. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA, 2003. Informes Técnicos Institucionais. Medidas para ampliar qualidade, segurança e eficácia dos medicamentos. **Rev Saúde Pública**, v. 37, n.6; p. 821-824, 2003;
4. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA, 2003a. **Resolução - RE nº 899, de 29 de maio de 2003**. D.O.U. 02/06/2003.
5. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA, 2004b. Informes Técnicos Institucionais. Medicamentos importados com garantia de qualidade. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, n. 2, p. 337-338, 2004;
6. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA, 2004c. Agência Nacional de Vigilância Sanitária/ Ministério da Saúde. Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde (OPAS/OMS). **Fórum Nacional**. "Prevenção e Combate à falsificação e fraude de medicamentos: uma responsabilidade compartilhada". Brasília, 06/07/2004. Termo de Referência. Brasília, 2004. Disponível em: http://new.paho.org/bra/index2.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=743&Itemid=423. Acessado em 04/04/2011.
7. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA, 2005. Informes Técnicos Institucionais. Subsídios à discussão sobre a proposta de regulamentação para farmácias magistrais. **Revista de Saúde Pública**, v. 39, n.4, p. 691-694, 2005.
8. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA, 2005a. Guia para Qualidade em Química Analítica - Uma Assistência à Habilitação. Seleção, uso e interpretação de programas de ensaios de proficiência (EP) por laboratórios: 2000 / Eurachem Nederland Laboratory of the Government Chemist of United Kingdom; tradução ANVISA. – Brasília: **SENAI/DN**, 2005.
9. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **ANVISA**, 2009. **Brasília, 16 de janeiro de 2009 - 14h. Lei cria sistema nacional de controle de medicamentos. Disponível em** <http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2009/160109.htm>. Acessado em 04/04/2011.
10. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **ANVISA**. O que devemos saber sobre medicamentos. 2010. Disponível em http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/6f35e90043e83690a3e0bbf12823b55a/Cartilha+BAIXA+revis%C3%A3o+24_08.pdf?MOD=AJPERES&useDefaultText=0&useDefaultDesc=0. Acessado em 04/04/2011

11. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **ANVISA**, 2011. Medicamento de Referência. Disponível em http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home/medicamentos?cat=Medicamentos+de+referencia&cat1=com.ibm.workplace.wcm.api.WCM_Category%2FMedicamentos+de+referencia%2F7a752c804f6be685af59bfc894994279%2FPUBLISHED&cn=com.ibm.workplace.wcm.api.WCM_Content%2FMedicamentos+de+Referencia%2F41d9738040212537af57af54e035b7cb%2FPUBLISHED&showForm=no&siteArea=Medicamentos&WCM_GLOBAL_CONTEXT=/wps/wcm/connect/anvisa/Anvisa/Inicio/Medicamentos/Publicacao+Medicamentos/Medicamentos+de+Referencia. Acessado em 04/04/2011
12. AGUIAR, B.M. DE; RUFINO, J.L.; ZAMORA, P.G.P.; GUIMARÃES, O.M.; Determinação simultânea de brometo de n-butilescolamina e dipirona em fármacos utilizando espectroscopia NIR e calibração multivariada. **XI Encontro de Química da Região Sul (XI SBQSUL)**, QA-12. Pelotas, RS - 5 a 7 de Novembro de 2003.
13. AGUNDEZ, J.A.G.; MARTINEZ, C.; MARTIN, R.; BENITEZ, J.; Determination of aminopyrine, dipyrone and its metabolites in urine by high-performance liquid chromatography. **Therapeutic Drug Monitoring**, v. 16, n. 3, p. 316-322, June 1994.
14. ALBUQUERQUE, J.S., SILVA, V.L.; LIMA, F.; ARAUJO, A.N.; MONTENEGRO, M.C.B.S.M.; Determination of dipyrone in pharmaceutical products by flow injection analysis with potentiometric detection. **Analytical Sciences**, v.19, n. 5, p. 691-694, May 2003.
15. ALVES, S.R.; Remédios na internet brasileira: Agravos à Saúde; **Dissertação de Mestrado**. Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde. Faculdade de Ciências da Saúde. Universidade de Brasília – UNB. Brasília/DF. 2008.
16. ALTUN, M.L.; HPLC method for the analysis of paracetamol, caffeine and dipyrone. **Turkish Journal of Chemistry**, v. 26, n. 4, p. 521-528, 2002.
17. ALVES, E.R.; POGGI e BORGES, E., BARROS, V.A.F. de; ZAGATTO, E.A.G.; Determinação de açúcares redutores totais empregando sistemas de análises por injeção em fluxo: aplicação a amostras de relevância sucro-alcooleira. **Revista Analytica**, n. 19, outubro/novembro 2005.
18. AMORIM, M.H.R. Desenvolvimento de um sistema de fluxo multi-impulsão para determinação espectrofotométrica de norfloxacin e ciprofloxacina em formulações farmacêuticas. **Dissertação de Mestrado**. Universidade de Lisboa. Faculdade de Farmácia. Mestrado em Engenharia Farmacêutica. Lisboa/Portugal, 2010.
19. ANDRADE, S.E.; MARTINEZ, C.; WALKER, A.M.; Comparative Safety Evaluation of Non-Narcotic Analgesics. **J. Clin. Epidemiol**, v. 51, n. 12, p. 1357-1365, 1998.
20. ARAÚJO, E.F. de; Análise da Política Nacional de Medicamentos no Brasil, 1999 a 2002: o caso dos Medicamentos Genéricos. **Dissertação de Mestrado**. Mestrado em Saúde Pública. Fundação Oswaldo Cruz. Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães. Departamento de Saúde Coletiva. Recife/PE. 2004.
21. ARAÚJO, L.U.; ALBUQUERQUE, K.T. de; KATO, K.C.; SILVEIRA, G.S.; MACIEL, N.R.; SPÓSITO, P.A.; BARCELLOS, N.M.S.; SOUZA, J. de; BUENO, M.; STORPIRTIS, S.; Medicamentos genéricos no Brasil: panorama histórico e legislação. **Rev. Panam Salud Publica**, v. 28, n. 6, p.480-492, 2010.
22. ARAÚJO, M.C.U.; HONORATO, R.S.; SANTOS, A.V.; SILVA, E.C.; Uma Célula Espectrofotométrica simples para sistemas de Análise Química em Fluxo Contínuo. Nota Técnica. **Química Nova**, v.19, n. 1, 1996.

23. ARRUDA, M.A.Z.; COLLINS, C.H.; INFORMAÇÕES ESSENCIAIS PARA A CARACTERIZAÇÃO DE UM SISTEMA DE ANÁLISE EM FLUXO. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 739-742, 2005.
24. ATIENZA, J.; HERRERO, M.A.; MAQUIEIRA, A.; PUCHADES, R.; Flow Injection Analysis of Seawater. Part II. Cation Species. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 23, n. 1, p. 1- 14, 1992.
25. AZEVEDO, R.C.P.; RIBEIRO, G.P.; ARAÚJO, M.B.; Desenvolvimento e validação do ensaio de dissolução para captopril em cápsulas magistrais por CLAE, **Rev. Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, abril/jun 2008.
26. BACCAN, N; ANDRADE, J.C. de; GODINHO, O.E.S.; BARONE, J.S. **Química Analítica Quantitativa Elementar**. Ed. Edgard Blücher Ltda. Campinas- São Paulo. Universidade Estadual de Campinas, 2001.
27. BALBANI, A.P.S.; STELZER, L.B.; MONTOVANI, J.C.; Excipientes de medicamentos e informações da bula. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 72, n. 3, p. 400-406, 2006.
28. BARANCELLI, R.; FERREIRA, J.R.N.; Avaliação Físico Química de Cápsulas Manipuladas de Prednisona no Município de Erechim, RS. **Evidência**, Joaçaba, v.7, n. 1, p.51 – 62, jan/jun, 2007.
29. BARANOWSKA, I.; MARKOWSKI, P.; BARANOWSKI, J.; Simultaneous determination of 11 drugs belonging to four different groups in human urine samples by reversed-phase high-performance liquid chromatography method. **Analytica Chimica Acta**, v. 570, p. 46-58, 2006.
30. BARBERATO-FILHO, S.; LOPES, L.C.; A Influência da Margem de Lucro na Comercialização de Medicamentos. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 38. n. 1, p. 99-106, 2007.
31. BARROS, C.B.; Validação de Métodos Analíticos. **Biológico**, v.64, n. 2, p.175-177, São Paulo/SP, jul./dez., 2002.
32. BAUTISTA, J.A.G.; ZAMORA, L.L.; MATEO, J.V.G.; CALATAYUD, J.M.; Indirect catalytic spectrophotometric determination of metamizol following oxidation by lead dioxide immobilized in a polyester resin bed. **Analytical Letters**, v. 29, n. 15, p. 2667-2678, 1996.
33. BERNARDES, M.L.P.; MUELLER, A.G.; Karimi,S.; Desenvolvimento e controle de qualidade de cápsulas contendo captopril 25 mg. **Interbio**, v.4 n.1, 2010.
34. BIONDO, A.C.; TUBINO, M.; VILA, M.M.D.; Análise espectrofotométrica quantitativa de dipirona usando reação com ácido cromotrópico catalisada por Fe⁺³. **60ª Reunião Anual da SBPC**. UNICAMP, Campinas/SP, 13 a 18 de julho de 2008.
35. BIONDO, A.C.; VILA, M.M.D.C.; PEZZA, L.; PEZZA, H.; TUBINO, M.; Análise espectrofotométrica "spot test" quantitativa de dipirona. **XVI Congresso Interno de Iniciação Científica da UNICAMP**. UNICAMP, Campinas/SP, 24 e 25 de setembro de 2008a.

36. BONI, A.C.; WONG, A.; DUTRA, R.A.F.; PILAR, M.D.; SOTOMAYOR, T.; Cobalt phthalocyanine as a biomimetic catalyst in the amperometric quantification of dipyrone using FIA. **Talanta**, v. 85, p. 2067– 2073, 2011.
37. BORTOLUZI, P.; LAPORTA, L.V.; Equivalência farmacêutica e estudo comparativo dos perfis de dissolução de medicamentos contendo cimetidina. **Disc. Scientia**. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 8, n. 1, p. 21-38, 2008.
38. BRASIL, 1996. **Lei nº 9.279/1996**.
39. BRASIL, 2001. **Decreto nº 3961/2001**.
40. BRASIL, 2003. **Resolução da Diretoria Colegiada nº 134/2003**.
41. BRASIL, 2010. **Resolução da Diretoria Colegiada nº 49/2010**.
42. CARNEIRO, J.A.; POSWAR, F. DE O.; RAMOS, M.I.A.; NASSAU, D.C., VELOSO, G.D.C. Agranulocitose induzida por dapsona em paciente com hanseníase. Relato de caso. **Rev. Bras. Clin. Med.**, v. 9, n. 3, p. 242-244, São Paulo/SP, mai-jun 2011.
43. CARRETERO, I.; MORELL, M.; LASERNA, J.J.; Determination of dipyrone metabolites in human plasma by micellar liquid-chromatography. **Journal of Liquid Chromatography**, v. 16, n.12, p. 2767-2775, 1993.
44. CARVALHO, M.C.R.D. de; ACCIOLY JR., H.; RAFFIN, F.N.; Representações sociais do medicamento genérico por consumidores residentes em Natal, Rio Grande do Norte, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 22, n. 3, p. 653-661, Rio de Janeiro/RJ, mar 2006.
45. CASSIANO, N.M.; BARREIRO, J.C.; MARTINS, L.R.R.; OLIVEIRA, R.V.; CASS, Q. B.; Validação em métodos cromatográficos para análises de pequenas moléculas em matrizes biológicas. **Quim. Nova**, v. 32, n. 4, p. 1021-1030, 2009
46. CERDÀ, V.; ESTELA, J.M.; FORTEZA, R.; CLADERA, A.; BECERRA, E.; ALTIMIRA, P.; SITJAR, P.; Flow techniques in water analysis. **Talanta**, v. 50, p. 695–705, 1999.
47. CHORILLI, M.; SOUZA, A.A.; CORRÊA, F.; SALGADO, H.R.N.; Estudo de perfil de dissolução dos medicamentos de referência, genérico e similar contendo cefalexina na forma farmacêutica cápsula. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, v. 31, n. 1, p. 69-73, 2010.
48. CLAUDIA; R.C.; FRANCISCO, J.C.; Application of flow injection analysis for determining sulphites in food and beverages: A review. **Food Chemistry**, v.112, p. 487 - 493, 2009.
49. COELHO, L.M.; TUMANG, C.A.; COELHO, N.M.M.; Experimentos didáticos aplicados ao ensino da química verde utilizando análise por injeção em fluxo: ensino da química verde. **Revista Teoria e Prática da Educação**, v. 9, n. 2, p.283-291, maio/agosto 2006.
50. COLOMBO, D.; SANTA HELENA, E.T.; AGOSTINHO, A.C.M.G.; DIDJURGEIT, J.S.M.A.; Padrão de prescrição de medicamentos nas unidades de programa de saúde da família de Blumenau. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 40, n. 4, p. 549-558, out/dez 2004.

51. CÓRDOVA, C.M.I.; Desenvolvimento de Sistemas de Análise em Fluxo por Multicomutação para Determinação de Poluentes Ambientais. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo- USP. São Paulo/SP. 2008.
52. DAL PIZZOL, T.S.; SCÜLER-FACCINI, L.; MENGUE, S.S.; FISCHER, M.I.; Dipyrone use during pregnancy and adverse perinatal events. **Arch Gynecol. Obstet.**, v. 279, p. 293-297, 2009.
53. DALL'OLIO, G.; BETTI, E.; M., P.L.R.C.; GUIMARÃES, S.O.; FEDER, D.; Agranulocitose induzida por dipirone. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 60, n. 9, p. 693-700, set. 2003.
54. DAMM, D.; Simultaneous determination of the main metabolites of dipyrone by high-pressure liquid-chromatography. **Arzneimittelforschung/Drug Research**, v. 39, n.11, p.1415-1417, nov 1989.
55. DANIELI, P.; LEAL, M.B.; Avaliação da Segurança da Dipirone: Uma Revisão. **Revista Bras. Farm.**, v. 84, n. 1, p. 17-20, 2003.
56. DINÇ, E.; BALEANU, D.; ONUR, F., Spectrophotometric multicomponent analysis of a mixture of metamizol, acetaminophen and caffeine in pharmaceutical formulations by two chemometric techniques. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 26, p. 949 – 957, 2001.
57. DINÇ, E.; ONUR, F.; Application of a new spectrophotometric method for the analysis of a ternary mixture containing metamizol, paracetamol and caffeine in tablets. **Analytica Chimica Acta**, v. 359, p. 93 – 106, 1998.
58. Economou, A.; Sequential-injection analysis (SIA): A useful tool for on-line samplehandling and pre-treatment. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, n. 5, 2005.
59. ELSADEK, M.; SALEM, H.; KHIER, A. A.; 1st Derivative spectrophotometric method for determination of ascorbic-acid and analgin in combination. **Spectros. Lett.**, v. 23, n. 1, p. 77-86, jan 1990.
60. ERGÜN, H.; FRATTARELLI, D.A.C.; ARANDA, J.V.; **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 35, p.479-487, 2004.
61. ERK, N.; ONUR, F. Simultaneous spectrophotometric determination of analgin and lidocaine hydrochloride in injection solutions. **STP Pharm. Sci.**, v. 6, n. 3, p. 216-220, 1996.
62. ERK, N.; ONUR, F. Simultaneous determination of analgine and paracetamol in tablets by spectrophotometric methods. **Anal. Lett.**, v. 30, n. 6, p.1201-1210, Apr. 1997.
63. ESTEVES, A.A.; BORGES, S.V.; ABRANTES, S.; SILVEIRA, M.G.; SOUZA, C.M.O.C.C.; Validação em laboratório de método analítico para determinação do teor de adipato e ftalato de di-(2-etil-hexila) utilizados como plastificantes em filmes flexíveis de PVC. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 219-223, 2007.
64. FARIA, L.C. de; Determinação condutométrica de amônia em digeridos de Kjeldahl, água e solos por análise por injeção em fluxo. **Dissertação de Mestrado**. Instituto de Química. Universidade Estadual de Campinas- UNICAMP, Campinas/SP, 1987.

65. FAJARDO, Y.; AVIVAR, J.; FERRER, L.; GÓMEZ, E.; CASAS, M.; CERDÀ, M.V.; Automation of radiochemical analysis by applying flow techniques to environmental samples. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 11, 2010.
66. FARMACOPÉIA BRASILEIRA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, v. 1, 5ª edição, Brasília/DF, 2010.
67. FARMACOPÉIA BRASILEIRA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, v. 2, 5ª edição, Brasília/DF, 2010.
68. FELIX, F.S.; ANGNES, L.; Fast and accurate analysis of drugs using amperometry associated with flow injection analysis. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, n. 12, p. 4784-4804, dez 2010.
69. FERNANDES, C.E.T.; KOZLOWSKI JR., V.A.; Avaliação da eficácia analgésica da dipirona sódica versus paracetamol e cloridrato de benzidamina no tratamento da dor pós-operatória em cirurgia odontológica - Estudo duplo-cego comparativo. **Âmbito Odontológico**, v. 4, n. 24, p.13-19, jul./ago. 1995.
70. FINOTTI, C.M.D.C.; Dipirona e agranulocitose - A dipirona consiste em um fármaco derivado da pirazolona, cuja ação analgésica e antipirética já foi provada por vários estudos. **28/10/2010.** Disponível em <http://www.portaleducacao.com.br/farmacia/artigos/9883/dipirona-e-agranulocitose>. Acessado em 19/05/2011.
71. FREITAS, S.S., Roteiro para aula prática de química analítica quantitativa, Experimento 08. 23/04/2009. Departamento de Química – UFG. Disponível em: http://www.catalao.ufg.br/siscomp/sis_prof/admin/files/sil-freitas/data23-04-2009-horas13-45-14.pdf Acessado em 24/06/2011.
72. GAVLIK, F.I.; GOMES, P.A.; Decisões Estratégicas: Medicamentos de Referência x Genéricos. **Revista Eletrônica Lato Sensu**, Ano 2, n. 1, julho de 2007.
73. **Gazeta Web** 10/08/2010. Vigilância Sanitária discute falsificação de medicamentos. Tema é abordado durante o Simpósio Alagoano de Combate a Falsificação de Medicamentos, realizado em Maceió. Disponível em http://gazetaweb.globo.com/v2/noticias/texto_completo.php?c=210490. Acessado em 01/03/2011.
74. GEISLINGER, G.; BOCKER, R.; LEVY, M.; High-performance liquid chromatographic analysis of dipyrone metabolites to study their formation in human liver microsomes. **Pharmaceutical Research**, v.13, n. 8, p.1272-1275, aug 1996.
75. GOUVEIA, E.R.; NASCIMENTO, R.T.; SOUTO-MAIOR, A.M.; ROCHA, G.J. DE M.; Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1500-1503, 2009.

76. GONSALVES, A. de A.; Desenvolvimento de procedimento analítico para determinação de paracetamol em formulações farmacêuticas empregando análise por injeção em fluxo e detecção espectrofotométrica. **Dissertação de Mestrado**. Programa de Pós Graduação em Química e Biotecnologia. Instituto de Química e Biotecnologia. Universidade Federal de Alagoas. Maceió/AL, 2008.
77. GOZZOLI, V.; TREGGIARI, M.M.; KLEGER, G.R.; ROUX-LOMBARD, P.; FATHI, M.; PICHARD, C.; ROMAND, J.A.; Randomized trial of the effect of antipyresis by metamizol, propacetamol or external cooling on metabolism, hemodynamics and inflammatory response. **Intensive Care. Med.**, v. 30, n. 3, p. 401-407, 2004.
78. GRAEF, L.E.; Desenvolvimento e validação de um método analítico quantitativo por eletroforese capilar para tuberculostáticos de primeira escolha. **Dissertação de Mestrado**. Pós – Graduação em Ciências Farmacêuticas. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2007.
79. GRUDPAN, K.; CHRISTIAN, G.D.; MCKELVIE, I.D.; How did flow injection analysis, and its related techniques, develop in various parts of the globe? Reflections of prominent FIA practitioners. **Talanta**, v. 84, p. 1200 - 1204, 2011.
80. GRUPO Pró-Genéricos. **Associação Brasileira das Indústrias de Medicamentos Genéricos. História**. São Paulo, 2011a. Disponível em: <http://www.progenericos.org.br/historia.shtml>. Acessado em 01/05/2011.
81. GRUPO Pró-Genéricos. **Associação Brasileira das Indústrias de Medicamentos Genéricos. Mercado**. São Paulo, 2011b. Disponível em: <http://www.progenericos.org.br/mercado.shtml>. Acessado em 01/05/2011.
82. GRUPO Pró-Genéricos. **Associação Brasileira das Indústrias de Medicamentos Genéricos. Faq**. São Paulo, 2011c. Disponível em: <http://www.progenericos.org.br/faq.shtml>. Acesso em 01/05/2011.
83. GUILHEN, S.N.; PIRES, M.A.F.; DANTAS, E.S.K.; XAVIER, F.V.; Validação de metodologia analítica para determinação de mercúrio total em amostras de urina por espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (CV-AAS). Estudo de caso. **Química Nova**, v.33, n. 6, São Paulo/SP, 2010.
84. GUIMARÃES, E.; CORRÊA, M.; Propriedade intelectual de medicamentos e o direito à saúde no brasil. **Revista Eletrônica - Polêmica**, n. 20, abril/junho 2007.
85. Hansen, E.H.; Comprehensive Analytical Chemistry. Advances in Flow Injection Analysis and Related Techniques. Flow Injection Analysis: Its Origins and Progress, **Elsevier**, v. 54, Chapter 1, 2008.
86. HANSEN, E.H.; MIRÓ, M.; How flow-injection analysis (FIA) over the past 25 years has changed our way of performing chemical analyses. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 1, 2007.
87. HARGIS, L.G.; **Analytical Chemistry – Principles and Techiques**. Edição United States, 1988.
88. HARRIS, D.C. **Análise Química Quantitativa**. 5ª Edição. Ed. LTC. Rio de Janeiro/RJ, 2001.

89. HARRIS, D.C. **Análise Química Quantitativa**. 7ª Edição. Ed. LTC. Rio de Janeiro/RJ, 2008.
90. HASENCLEVER, L.; O mercado de medicamentos genéricos no Brasil. 2004. Disponível em http://www.deolhonaspateentes.org.br/media/file/Patentes/hasenclever_ufrj_%20mercado_medicamentos_genericos.PDF. Acessado em 03/03/2011.
91. HASENCLEVER, L.; PARANHOS, J.; PAIVA, V.; A extensão da propriedade intelectual através do sigilo do registro de medicamentos: empecilhos à política de medicamentos genéricos. **RECIIS – R. Eletr. de Com. Inf. Inov. Saúde**, Rio de Janeiro/RJ, v. 2, n. 2, p. 50-57, jul-dez 2008.
92. HEDENMALM, K.; SPIGSET, O. Agranulocytosis and other blood dyscrasias associated with dipyron (metamizole). **Eur J. Clin. Pharmacol.** v. 58, p. 265-274, 2002.
93. HINZ, B.; CHEREMINA, O.; BACHMAKOV, J.; RENNER, B.; ZOLK, O.; FROMM, M.F.; BRUNE, K.; Dipyron elicits substantial inhibition of peripheral cyclooxygenases in humans: new insights into the pharmacology of an old analgesic. **The FASEB Journal - Research Communication**, v. 21, p. 2343-2351, august 2007.
94. ICH - International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use - Harmonised Tripartite Guideline, 2005. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1). Disponível em http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf. Acessado em 26/11/2011
95. INMETRO. DOQ-CGCRE-008 - Orientação sobre a validação de métodos de ensaios químicos. Revisão 04, 2011. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_04.pdf
96. **IQUEGO** – DIPIRONA. Bula de Medicamento – Dipirona Sódica. 2011.
97. **JORNAL O ESTADO DE SÃO PAULO**. Cresce falsificação de remédios pelo mundo, alerta OMS. 20 de maio de 2010. Disponível em <http://www.estadao.com.br/noticias/vidae.cresce-falsificacao-de-remedios-pelo-mundo-alerta-oms.554260.0.htm>. Acessado em 05/05/2011.
98. **JORNAL O ESTADO DE SÃO PAULO**. Países fecham acordo para criminalizar remédios falsos. 19 de abril de 2010. Disponível em: <http://www.estadao.com.br/noticias/geral.países-fecham-acordo-para-criminalizar-remedios-falsos.540220.0.htm> Acessado em 05/05/2011.
99. **JORNAL O ESTADO DE SÃO PAULO**. ANVISA lança campanha de combate a medicamentos falsificados. Objetivo é orientar a população sobre os riscos do consumo de produtos clandestinos. 12 de abril de 2010. Disponível em: <http://www.estadao.com.br/noticias/vidae.anvisa-lanca-campanha-de-combate-a-medicamentos-falsificados.537227.0.htm> Acessado em 05/05/2011.
100. **JORNAL O ESTADO DE SÃO PAULO**. O rastreamento de remédios. 02 de abril de 2010. Disponível em: http://www.estadao.com.br/estadaodehoje/20100402/not_imp532663.0.php. Acessado em 05/05/2011.
101. HAMERSCHLAK, N.; CAVALCANTI, B.; Neutropenia, agranulocytosis and dipyron. **São Paulo Med. J.**, v. 123, n.5, p.247-9, 2005.

102. HUANG, Y.M.; ZHANG, C.; ZHANG, X.R.; ZHANG, Z.J. A novel chemiluminescence flow-through sensor for the determination of analgin. **Fresenius Journal Anal. Chem.**, v. 365, p.381-383, 1999b.
103. KARLBERG, B.; PACEY, G.E.; Flow Injection Analysis. A Practical Guide. **Elsevier Science Publishers**. New York/USA,1989.
104. KATZ, E.Z.; GRANIT, L.; DRAYER, D.E.; LEVY, M.; Simultaneous determination of dipyrone metabolites in plasma by high-performance liquid-chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 305, p. 477- 484, 1984.
105. KAWAMURA, K.; IKOMA, K.; IGARASHI, S.; HISAMOTO, H.; YAO, T.; Flow injection analysis combined with a hydrothermal flow reactor: Application to kinetic determination of trace amounts of iridium using a water-soluble porphyrin. **Talanta**, v. 84, p. 1318–1322, 2011.
106. KHAN, Z.; AL-THABAITI, S.A.; OBAID, A.Y.; KHAN, Z.A.; MnO₂ nanostructures of different morphologies from amino acids–MnO₄⁻ reactions in aqueous solutions. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 81, p. 381–384, 2010.
107. KNAPPMANN, A.L.; MELO, E.B.; Qualidade de Medicamentos Isentos de Prescrição: Um estudo com marcas de dipirona comercializadas em uma drogaria de Cascavel (PR, Brasil). **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 15 (Supl.3), p. 3467-3476, 2010.
108. KÖHLER, L.F.; NASCIMENTO, H.D.; SCHWENGBER, E.L.L.; BANDEIRA, Z.M.P.; PAZIN, G.V.; MACHADO, S.R.P.; Avaliação biofarmacotécnica e perfil de dissolução de comprimidos de dipirona: equivalências farmacêuticas entre medicamentos de referência, genéricos e similares. **Rev. Bras. Farm.**, v. 90, n. 4, p. 309-315, 2009.
109. LAPA, R.A.S.; LIMA, J.L.F.C.; REIS, B.F.; SANTOS, J.L.M.; ZAGATTO, E.A.G. Multi-pumping in flow analysis: concepts, instrumentation, potentialities. **Analytica Chimica Acta**, v. 466, p. 125–132, 2002.
110. LAWSON, G.M.; Defining limit of detection and limit of quantitation as applied to drug of abuse testing: Striving for a consensus. **Clinical Chemistry**, v.40, n. 7, p.1218-1219, 1994.
111. LEITE, F.; **Validação em Análise Química**. 4ª edição, ed. Átomo. Campinas/São Paulo, 2002.
112. LEITE, O.D.; FATIBELLO-FILHO, O.; ROCHA, F.R.P.; Um Experimento de Análise em Fluxo Envolvendo Reações Enzimáticas e Quimiluminescência. **Química Nova**, v. 27, n. 2, p. 337-341, 2004.
113. LEMOS, S.G.; Análise em Fluxo e Análise in situ como Estratégias de melhoramento da Seqüência Analítica de Amostras Agronômicas. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal de São Carlos – UFSCAR. Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia. Departamento de Química. Programa de Pós-Graduação em Química. São Carlos/SP. 2005.
114. LEVY, M.; ZYLBER-KATZ, E.; ROSENKRANZ, B.; Clinical Pharmacokinetics of Dipyrone and Its Metabolites. **Clin. Pharmacokinet**, v. 28, n. 3, p. 216-234, mar 1995.

115. LIMA, J.L.F.C.; SÁ, S.M.O.; SANTOS, J.L.M.; ZAGATTO, E.A.G.; Multi-pumping flow system for the spectrophotometric determination of dipyrone in pharmaceutical preparations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 32, p. 1011-1017, august 2003.
116. LINSBINSKI, L.M.; CARLO RALPH DE MUSIS; MACHADO, S.R.P.; Avaliação da equivalência farmacêutica de comprimidos de captopril. **Rev. Bras. Farm.**, v. 89, n. 3, 2008.
117. MAGALHÃES, L.M.; Lúcio, M.; Segundo, M.A.; Reis, S.; Lima, J.L.F.C.; Review. Automatic flow injection based methodologies for determination of scavenging capacity against biologically relevant reactive species of oxygen and nitrogen. **Talanta**, v. 78, p. 1219 -1226, 2009
118. MAGNI, A.M.; SCHEFFER, D.K.; BRUNIERA, P.; Comportamento dos Antitérmicos ibuprofeno e dipirona em crianças febris. **Jornal de Pediatria**, v. 87, n. 1, 2011.
119. MAHLE, 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. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 28, n.3, p. 265 - 271, 2007.
120. MARCATTO, A.P.; LAMIM, R.; BLOCK, L.C.; BRESOLIN, T.M.B.; Análise de Cápsulas de Captopril Manipuladas em Farmácias. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v.26, n. 3, p. 221-225, 2005.
121. MARCOLINO-Jr., L.H.; Bonifácio, V.G.; Fatibello-Filho, O.; Teixeira, M.F.S. Determinação turbidimétrica de dipirona em fluxo utilizando um reator contendo cloreto de prata imobilizado em resina poliéster. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 783-787, 2005.
122. MARCOLINO-Jr., L.H.; SOUSA, R.A.; FATIBELO-FILHO, O.; MORAES, F.C.; TEIXEIRA, M.F.S.; Flow-Injection spectrophotometric determination of dipyrone in pharmaceutical formulations using ammonium molybdate as chromogenic reagent. **Analytical Letters**, v. 38, p.2315-2326, 2005a.
123. MARCOLINO Jr., L.H.; Eletrodos voltamétricos e amperométricos para a determinação de espécies de interesse farmacêutico. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal de São Carlos - UFSCar. São Carlos/SP. 2007.
124. MASINI, J.C.; Demonstrandoos Fundamentos, Potencialidades e Limitações da Análise por Injeção Seqüencial. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 704-707, 2008.
125. MASTROIANNI, P.C.; LUCCHETTA, R.C.; Regulamentação Sanitária de Medicamentos. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 32, n. 1, p. 127-132, 2011.
126. MATOS, R.C.; ANGNES, L.; ARAUJO, M.C.U.; SALDANHA, T.C.B.; Modified microelectrodes and multivariate calibration for flow injection amperometric simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine, epinephrine and dipyrone. **Analyst**, v. 125, n. 11, p. 2011- 2015, 2000.
127. MCKELVIE, I.D.; Comprehensive Analytical Chemistry. Advances in Flow Injection Analysis and Related Techniques. Principles of Flow Injection Analysis, **Elsevier**, v. 54, Chapter 4, 2008.

128. MEDEIROS, E.P.; CASTRO, S.L.; FORMIGA, F.M.; SANTOS, S.R.B.; NASCIMENTO, V.B.; ARAÚJO, M.C.U.; A flow injection method for biamprometric determination of dipyrone in pharmaceuticals, **Microchemical Journal**, v. 78, p. 91-96, 2004.
129. MELCHERT, W.R.; ROCHA, F.R.P.; RAIMUNDO Jr., I.M.; REIS, B.R.; Construção de uma cela de fluxo de longo caminho óptico para medidas espectrofotométricas. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 427-429, 2008.
130. MELO, E.B. de; MINNETO, A.; VIOLIN, I.; BRAGA, R. S.; ANDRADE, E.; MARIOT, S.; SCHNEIDER, D.S.L.; GODOI, M.F. de S.; LUCCA, P.S.R. Medicamentos similares e saúde pública: controle de qualidade físico-químico de comprimidos de similar de ácido acetilsalicílico do estoque da farmácia básica do município de Cascavel, PR, Brasil. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 25, n. 3, p. 344-50, 2006.
131. MENEGHINI, L. Z.; ADAMS, A. I. H.; Avaliação físico-química de cápsulas de diazepam manipuladas em farmácias magistrais de Passo Fundo/RS, **Rev. Bras. Farm.**, v. 88, p.67 - 70, 2007.
132. MERVARTOVÁ, K.; POLSASEK, M.; CALATAYUD, J.M.; Recent applications of flow injection and sequential-injection analysis techniques to chemiluminescence determination of pharmaceuticals. Review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, n. 45, p. 367-381, 2007.
133. MILLER, J.N.; MILLER, J.C.; Statistic and Chemometrics for Analytical Chemistry. 5a Edition, **Pearson Education Limited**, England, 2005.
134. MOFFATT, J.; Dipyrone-containing analgesics, **SAMJ**, v. 70, sept 1986.
135. MOCÁK, J.; BOND, A. M.; MITCHELL, S.; SCOLLARY, G.; A statistical overview of standard (IUPAC and ACS) and new procedures for determining the limits of detection and quantification: application to voltammetric and stripping techniques. **Pure & Appl. Chern.**, v. 69, n. 2, p. 297-328, 1997.
136. MUÑOZ, R.A.A.; MATOS, R.C.; ANGNES, L.; Amperometric determination of dipyrone in pharmaceutical formulations with a flow cell containing gold electrodes from recordable compact discs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 90, n. 12, p. 1972-1977, dez 2001.
137. NASCIMENTO, E.C.L.; LIMA, R.A.C.; GAIÃO, E.N.; SANTOS, S.R.B.; ARAÚJO, M.C.U.; Exploração de Efeito Schlieren de um sistema FIA para determinação de NaCl, KCl e glicose em soros e injetáveis usando PLS. **30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. Sociedade Brasileira de Química (SBQ).
138. NEVES, E.L.T.; Síntese e Avaliação Biológica de Palmitato de Dipirone. **Dissertação de Mestrado**. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Faculdade de Ciências farmacêuticas. Universidade Estadual Paulista. 2004.
139. NISHIJIMA, M.; Análise econômica dos medicamentos genéricos no Brasil. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo. Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade. Instituto de Pesquisas Econômicas. São Paulo/SP. 2003.
140. NISHIJIMA, M.; Uma década de medicamentos genéricos no Brasil. Temas de economia aplicada. **Informações Fipe**, p.17-22, agosto/2010.

141. NOËL, F.; NEVES, C.S. de M.; GRAM, K.R.; RIVELLI, R. de F.; GONÇALVES, J.C.S.; Estudos de bioequivalência para formas de liberação modificada. **Infarma**, v.16, p. 7-8, 2004.
142. NT-003. Shimadzu do Brasil. Centro de Suporte a Cliente. Determinação de Limite de Detecção e Quantificação em AAS. 2011. Disponível em http://www.shimadzu.com.br/analitica/aplicacoes/espectrofotometros/aa/NT003_Shimadzu_Brasil_Determinacao_de_LD_LQ_em_AAS.pdf. Acessado em 09/07/2011
143. OKUYAMA, S.S.K.; Proposta de padronização para o preparo de medicamentos na farmácia magistral: formas farmacêuticas semi- sólidas e líquidas. **Dissertação de Mestrado**. Programa de Pós Graduação de Tecnologia em Saúde – PPGTS. Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Brasil 2010.
144. OLIVEIRA, E.A.S. de; Fármacos anti-inflamatórios. **Apostila**, n. 04, 2009. Disponível em: <http://www.easo.com.br/Downloads/Farmacos%20Anti-inflamatorios.pdf>. Acessado em: 04/06/2011.
145. OLIVEIRA, M.C.; NOGUEIRA, R.F.P.; GOMES NETO, J.A.; JARDIM, W.F.; ROHWEDDER, J.J.R.; Sistema de injeção em fluxo espectrofotométrico para monitorar peróxido de hidrogênio em processo de fotodegradação por reação foto-fenton. **Química Nova**, v. 24, n. 2, p. 188-190, 2001.
146. OLIVEIRA, P.G.; STORPIRTIS, S.; Toxicidade de excipientes: carência de informação nas bulas de medicamentos disponíveis no mercado brasileiro. **Revista Brasileira Ciência Farm.**, v. 35, n.1, p.71, 1999.
147. OMS. Organização Mundial da Saúde. Departamento de Medicamentos essenciais e Outros Medicamentos. Medicamentos falsificados: diretrizes para desenvolvimento de medidas de combate a medicamentos falsificados/ Organização Mundial da Saúde - Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde; **Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA**, 2005a.
148. OPAS. Organização Pan-Americana de Saúde - Representação Brasil. Prevenção e Combate à Falsificação e Fraude de Medicamentos: Uma Responsabilidade Compartilhada. Brasília. OPAS: **Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA**. 2005.
149. PALGROSSI, F.S.; PEDROTTI, J.J.; GUTZ, I.G.R.; Injetor multicanal com válvulas de estrangulamento para análise em fluxo. **Química Nova**, v. 24, n. 5, p. 689-692, 2001.
150. PALUDETTI, L.A.; Quero ser cápsula. 24/09/2010. Disponível em: <http://www.crfms.org.br/noticias/877/artigo-quiero-ser-capsula>. Acessado em 05/04/2011.
151. PASQUINI, C.; Why it is Called Monosegmented Flow Analysis. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 10, n. 6, p. 527-529, 1999.
152. PASTORE, K.; O paraíso dos remédios falsificados. Como opera a máfia que transformou o Brasil num dos campeões da fraude de medicamentos. **Revista VEJA**. Ed. Abril. 08/07/1998. Disponível em: http://veja.abril.com.br/080798/p_040.html. Acessado em: 06/05/2011.

153. PENONI, N.; Caracterização potenciométrica simultânea em fluxo, de espécies aniônicas, empregando análise das componentes principais e redes neurais artificiais. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal de Viçosa-UFV. Viçosa/MG. 2006.
154. PEREIRA, A.; SCHESHOWITSCH, K.; CRUZ, A.; SILVA, M.A.S.; STULZER, H.K.; Validação de metodologia analítica para quantificação de piroxicam em cápsulas de gelatina por espectrofotometria ultravioleta (UV). **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 8, n. 2, jul – dez 2007.
155. PEREIRA, A.V.; PENCKOWSKI, L.; VOSGERAU, M.; SASSÁ, M.F.; FATIBELLO-FILHO, O.; Determinação espectrofotométrica de dipirona em produtos farmacêuticos por injeção em fluxo pela geração de íons triodeto. **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 553-557, 2002.
156. PEREZ-RUIZ, T.; MARTINEZ-LOZANO, C.; TOMÁS, V.; CARPENA, J.; Flow-injection fluorometric determination of novalgin in pharmaceutical preparations. **Microchemical Journal**, v. 47, p. 296-301, 1993.
157. PESTANA, J.L.; PRADO, M.A.F.; CAMPOS, L.M.M. Desenvolvimento de método por iodimetria alternativo para doseamento da dipirona sódica em matéria-prima e medicamentos. **Rev. Bras. Farm.**, v. 89, n.1, p. 13-17, 2008.
158. PEZZA, L.; TUBINO, M.; MELIOS, C.B.; PEZZA, H.R.; Rapid spot test analysis for the detection of dipyrone in pharmaceutical preparations. **Analytical Sciences**, v. 16, p. 313 - 315, march 2000.
159. Portal da Educação. Intoxicação por medicamentos. 01/01/ 2008. Disponível em <http://www.portaleducacao.com.br/farmacia/artigos/521/intoxicacao-por-medicamentos>. Acessado em 03/04/2011.
160. PRADO, J.; DAZA, R.; CHUMBES, O.; LOAYZA, I.; HUICHO, L.; Antipyretic efficacy and tolerability of oral ibuprofen, oral dipyrone and intramuscular dipyrone in children: a randomized controlled trial. **São Paulo Med. J.**, v.124, n. 3, p. 135-40, 2006.
161. QUEIROZ, C.A.R.; Métodos FIA para análise de níquel e de sulfato por reflectância difusas na região do visível. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. Campinas/SP. 2008.
162. QURESHI, S.Z.; SAEED, A.; HASAN, T.; Spectrophotometric determination of novalgin in tablets by use of potassium iodate. **Talanta**, v. 36, n. 8, p. 869-871, august 1989.
163. RAMADAN, A.A.; MANDIL, H.; HAFEZ, B.; Determination of dipyrone in pure form and pharmaceutical formulations by differential pulse polarographic analysis. **Asian Journal of Chemistry**, v. 2, n. 1, p. 403-406, jan 2011.
164. REIS, B.F.; Análise química por injeção em fluxo: vinte anos de desenvolvimento. Revisão. **Química Nova**, v. 19, n. 1, 1996.
165. REIS, B.F.; GINÉ, M.F.; KRONKA, E.A.M. A Análise Química por Injeção em Fluxo Contínuo. **Química Nova**, v.12, n.1, 1989.
166. REIS, B.F.; MARTELLI, P.B.; MENEGÁRIO, A.A.; GINÉ, M.F.; Sistema de análise química por injeção em fluxo controlado por microcomputador para diluição automática em espectrometria de absorção atômica. **Química Nova**, v. 16, n. 2, 1993.

167. REVISTA SAÚDE S/A. Apreensão de medicamentos falsificados cresce 500% entre 2009 e 2010. 28/03/2011. Disponível em: <http://www.revistasaudesa.com.br/apreenso-de-medicamentos-falsificados-cresce-500-entre-2009-2010/>. Acessado em 05/04/2011.
168. REVISTA SAÚDE S/A. 30/05/2011. Cerca de 50 novos genéricos devem chegar ao mercado. Disponível em: <http://www.revistasaudesa.com.br/cerca-de-50-novos-genricos-devem-chegar-ao-mercado/>. Acessado em: 30/05/2011.
169. RIBANI, M.; BOTTOLI, C.B.G.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F.; MELO, L.F.C.; Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos, **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.
170. RIBEIRO, F.A.L.; FERREIRA, M.M.C.; MORANO, S.C.; SILVA, L.R.; SCHNEIDER, R.P.; Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 164-171, 2008.
171. ROCHA, F.R.P.; MARTELLI, P.B.; REIS, B.F.; Experimentos didáticos utilizando sistema de análise por injeção em fluxo. **Química Nova**, v. 23, n. 1, 1999.
172. RUIZ-MEDINA, A.; LLORENT-MARTÍNEZ, E.J.; Recent progress of flow-through optosensing in clinical and pharmaceutical analysis. Review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 53, p. 250–261, 2010.
173. RUMEL, D.; NISHIOKA, S.A.; SANTOS, A.A.M. dos; Intercambialidade de medicamentos: abordagem clínica e o ponto de vista do consumidor. **Rev. Saúde Pública**, v. 40, n. 5, p. 921-927, 2006.
174. RUZICKA, J.; HANSEN, E.H.; Retro-review of flow-injection analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 5, 2008.
175. SAKIARA, K.A.; PEZZA, L.; MELIOS, C.B.; PEZZA, H.R.; MORAES, M.; Spectrophotometric determination of dipyrone in pharmaceutical preparations by using cromotropic acid. **II Fármaco**, v. 54, p. 629-635, 1999.
176. SANTANA, A.K.M.; NUNES, L.C.C.; MEDEIROS, F.P.M.; SILVA, M.J.; LAVRA, Z.M.M.; ROLIM-NETO, P.J.; Otimização e validação do método analítico volumétrico para quantificação do carbonato de cálcio. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 28, n. 2, p.177-183, 2007.
177. SANTOS, J.C.C.; Avaliação e síntese de corantes fenotiazínicos para determinação espectrofotométrica de sulfeto e sulfito empregando sistemas de análise em fluxo. **Dissertação de Mestrado**. Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada – PGQA. Universidade do Estado da Bahia. Salvador/BA. 2004.
178. SANTOS, D.J. dos; Avaliação da qualidade físico-química de cápsulas de cloridrato de ranitidina manipuladas em farmácias magistrais de Maceió-AL. **Trabalho de conclusão de curso**. Universidade Federal de Alagoas. Escola de Enfermagem e Farmácia. Curso de Farmácia. Maceió/AL 2011.
179. SANTOS, W.T.P. dos; GIMENES, D.T.; ALMEIDA, E.G.N. de; EIRAS, S. de P; ALBUQUERQUE, Y.D.T.; RICHTER, E.M.; Simple flow injection amperometric system for simultaneous determination of dipyrone and paracetamol in pharmaceutical formulations. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 20, n. 7, p. 1249 - 1255, 2009.

180. SARKAR, M.; KHANDAVILLI, S.; PANCHAGNULA, R.; Development and validation of RP-HPLC and ultraviolet spectrophotometric methods of analysis for the quantitative estimation of antiretroviral drugs in pharmaceutical dosage forms. **Journal of Chromatography B**, v. 830, p. 349–354, 2006.
181. SEADI, J.A.; **Crimes hediondos e a falsificação de medicamentos**. 1ª Edição, EDIPUCRS, Porto Alegre, 2002.
182. SCHMIDT Jr., E.; MELCHERT, W.R.; ROCHA, F.R.P.; Determinação espectrofotométrica de fármacos em análises por injeção em fluxo baseado na formação do complexo Cu(I)/BQA. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). **31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2009.
183. SEBEN, V.C.; LUGOCH, R.W.; SCHLINKER, ARBO, M.D.; VIANNA, R.L.; Validação de metodologia analítica e estudo de estabilidade para quantificação sérica de paracetamol. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 46, n. 2, p.143-148, abril 2010.
184. SEMAAN, F.S.; Revisão de literatura análises por injeção em fluxo. **R. Um. Alfenas**, Alfenas, v. 5, p. 237-238, 1999.
185. SENYUVA, H.Z.; AKSAHIN, I.; OZCAN, S.; KABASAKAL, B.V.; Rapid, simple and accurate liquid chromatography–diode array detection validated method for the determination of dipyrone in solid and liquid dosage forms. **Analytica Chimica Acta**, v. 547, p. 73–77, 2005.
186. SFEIR, S.A.; SILVA, D.da; GARCIA, M.N.; MORETTI, S.L.do A.; Estratégias empresariais para medicamentos genéricos no Brasil: um estudo com as dez maiores empresas do setor. **Revista Ibero-Americana de Estratégia**, v. 10, n. 1, p. 76-101, jan/abr 2011.
187. SHEN, J.C.; PANG, G.F.; XIE, L.Q.; LIN, Y.K.; CHEN, P.J.; HAN, R.Y.; Analysis of dipyrone metabolite residues in bovine muscle and porcine muscle by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry detection. **CHINESE JOURNAL OF ANALYTICAL CHEMISTRY**, v. 35, n. 11, p. 1565-1569, nov 2007.
188. SILVA, R.F.S.; NASCIMENTO FILHO, A.P.; SANTOS, C.R.; Avaliação Retrospectiva do Processo de Produção de Cápsulas em Farmácias de Manipulação Através do Controle Estatístico de Processo. **IV Congresso Nacional de Excelência em Gestão**. Responsabilidade Socioambiental das Organizações Brasileiras. 31 de julho a 02 de agosto de 2008. Niterói/RJ, 2008.
189. SILVA, A.V.A.; FONSECA, S.G.C.; ARRAIS, E.V.F.; FRANCELINO, E.V.; Presença de Excipientes com potencial para Indução de Reações Adversas em medicamentos comercializados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 3, jul/set 2008a.
190. SILVA, B.M da; Desenvolvimento de metodologia simples, rápida e sem etapa de clean-up para determinação de glifosato em amostras ambientais de água e solo por HPLC/UV-VIS. **Dissertação de Mestrado**. Instituto de Química de São Carlos. Universidade de São Paulo. São Carlos/SP, 2009.

191. SILVA, J.A.; BEDOR, D.C.G.; SOUSA, C.E.M.; SANTANA, D.P.; EGITO, E.S.T.; Desenvolvimento e validação de método analítico para quantificação de diclofenaco de dietilamônio em pele humana por cromatografia líquida de alta eficiência. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 31, n.1, p. 41-46, 2010
192. SKEIKA, T.; FARIA, M.F. de; NAGATA, N.; PESSOA, C.A.; Simultaneous Voltammetric Determination of Dypirone and Paracetamol with Carbon Paste Electrode and Multivariate Calibration Methodology. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 19, n. 4, p. 762-768, 2008
193. SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T.A.; **Princípios de Análise Instrumental**, 5ª Edição, ed. Bookman, Porto Alegre/RS, 2002.
194. SKOOG, D.A.; WEST, D.M.; HOLLER, F.J.; CROUCH, S.R.; **Fundamentos de Química Analítica**, 8a Edição, ed. Thomson, São Paulo/SP, 2006.
195. SOLICH, P.; SKLENÁŘOVÁ, H.; POLÁSEK, M.; KARLÍČEK, R.; Application of Flow Injection Technique in Pharmaceutical Analysis. Part I.: Spectrophotometric and Chemiluminescence Detection. **J. Flow Injection Anal.**, v. 18, n.1, 2001.
196. SONG, Z-H.; ZHANG, N.; In vitro detecting ultra-trace novalgin in medicine and human urine by chemiluminescence. **Talanta**, v. 60, p. 161-170, 2003.
197. SOUZA, J.S.DE; PARISOTTO, G.; FURTADO, J.C.; MOLZ, R.F.; FERRÃO, M.F.; Análise multivariada aplicada na identificação de medicamentos contendo diclofenaco. **XI Encontro de Química da Região Sul** (XI SBQSUL). QA-27. Pelotas, RS – 5 a 7 de Novembro de 2003.
198. STADEN, J.F.VAN; STADEN, R.I.S.VAN.; Application of porphyrins in flow-injection analysis: A review. **Talanta**, v. 80, p. 1598–1605, 2010.
199. SUAREZ, W.T.; VIEIRA, H.J.; FATIBELLO-FILHO, O.; Sistema de análise por injeção em fluxo reverso (FIA-r) para determinação de paracetamol utilizando nitrito como reagente. **XVI Encontro de Química da Região Sul** (16-SBQSul). FURB, 13 a 15 de novembro de 2008.
200. SUAREZ, W.T.; PESSOA-NETO, O.D.; VICENTINI, F.C.; JANEGITZ, B.C.; FARIA, R.C.; FATIBELLO-FILHO, O.; Flow injection spectrophotometric determination of dipyron in pharmaceutical formulations using Fe(III) as reagent. **Analytical Letters**, v. 44, p. 340-348, 2011.
201. TROJANOWICZ, M.; **Advances in Flow Analysis**. Wiley-VCH. Gemany. 2008.
202. TUBINO, M.; BIONDO, A.C.; VILA, M.M.D.C.; PEZZA, L.; PEZZA, H. R.; Spot-test identification and rapid quantitative sequential analysis of dipyron. **Eclética Química**, v. 35, n. 1, 2010.
203. TUBINO, M.; VILA, M.M.D.C.; BIONDO, A.C.; PEZZA, L.; PEZZA, H. Método rápido para a determinação de dipirona em fármacos usando a reação com ácido cromotrópico catalisada por Fe³⁺. **31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. 20 a 23 de maio de 2002, Poços de Caldas/MG.

204. TUOTO, E.A.; Dipirona Proibida em mais de 30 Países. 27/08/2009. Disponível em <http://historyofmedicine.blogspot.com/2009/08/dipirona-proibida-em-mais-de-30-paises.html>. Acessado em 20/06/2011.
205. VALE, N. Desmistificando o Uso da Dipirona - Medicina Perioperatória. Disponível em http://www.saj.med.br/uploaded/File/novos_artigos/126%20%20Desmistificando%20o%20Uso%20da%20Dipirona.pdf. Acessado em, 19/06/2011.
206. VALENTINI, S.R., SOMMER, W.A., MATIOLI G.; Validação de métodos analíticos. **Arq Mudi.**, v.11, n. 2, p. 26-31, 2007.
207. VASSILEVA-ALEXANDROVA, P.; SHISHMANOV, P. S.; Spectrophotometric determination of dipyrone with neotetrazolium chloride. **Anal. Chem.**, v. 47, n.8, p. 1432-1435, July 1975.
208. VAZ, F.L., MILFONT, M.L.B.; SOUTO-MAIOR, A.M.; GOUVEIA, E.R.; Determinação da concentração de paclobutrazol por cromatografia líquida de alta eficiência e espectroscopia. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 281-283, 2007.
209. **VIDA E EQUILÍBRIO**. Medicamento original: o caminho mais seguro no tratamento da disfunção erétil. Sistema de rastreamento de medicamentos deve garantir maior segurança ao consumidor. 02/08/2010 Disponível em <http://vidaequilibrio.com.br/medicamento-original-o-caminho-mais-seguro-no-tratamento-da-disfuncao-eretil>. Acessado em 18/03/2011.
210. VIEIRA, F.S.; ZUCCHI, P.; Diferenças de preços entre medicamentos genéricos e de referência no Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v. 40, n. 3, p. 444-449, 2006;
211. VOGEL, A.I.; **Análise Química Quantitativa**, 6ª Edição, ed. LTC, Rio de Janeiro/RJ, 2002.
212. WANNMACHER, L.; Paracetamol versus Dipirona: como mensurar o risco?. **Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde – Brasil**, v. 2, n. 5, 2005.
213. WANNMACHER, L.; FERREIRA, M.B.C.; Febre: mitos que determinam condutas. **Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde – Brasil**, v. 1, n. 9, 2009.
214. WEINERT, P.L.; FERNANDES, J.R.; PEZZA, L.; PEZZA, H.R.; Flow-injection spectrophotometric determination of novalgin in pharmaceuticals using micellar medium. **Analytical Sciences**, v. 23, n. 12, p. 1383-1389, Dec 2007a.
215. WEINERT, P.L.; PEZZA, L.; PEZZA, H.R.; A simplified reflectometric method for the rapid determination of dipyrone in pharmaceutical formulations. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 18, n. 4, p. 846-854, 2007b.
216. WEINERT, P.L.; Desenvolvimento de métodos para determinação de sulfonamidas, dipirona e citrato de sildenafil em matrizes diversas. **Tese de Doutorado**. Instituto de Química. Universidade Estadual Paulista - UNESP. Araraquara/SP. 2008a.
217. WEINERT, P.L.; PEZZA, L.; PEZZA, H.R.; Determinação espectrofotométrica de citrato de sildenafil em formulações farmacêuticas. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1112-1116, 2008b.

218. WONG, A.; SIBBALD A.; FERRERO, F.; PLAGER, M.; SANTOLAYA, M.E.; ESCOBAR, A.M.; CAMPOS, S.; BARRAGÁN, S.; DE LEÓN GONZÁLEZ, M.; KESSELRING, G.L.; Antipyretic effects of dipyrene versus ibuprofen versus acetaminophen in children: results of a multinational, randomized, modified double-blind study. **Clin. Pediatr. Philadelphia**, v. 40, n. 6, p. 313-324, 2001.
219. YACUBIAN, E.M.T. Medicamentos genéricos no tratamento das epilepsias. Uma reflexão. **Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiolog**, v. 13, n. 3, p. 127-130, 2007;
220. ZAGATTO, E.A.; BRIENZA, S.M.B.; ARRUDA, M.A.Z.; JACINTHO, A.O.; Sistemas de Análises Químicas por Injeção em Fluxo Envolvendo Troca-Iônica: Configurações Básicas. Revisão. **Química Nova**, v. 16, n. 2, p. 130-132, 1993.
221. ZAGATTO, E.A.G.; BRIENZA, S.M.B.; ARRUDA, M.A.Z.; JACINTHO, A.O.; Sistemas de Análises Químicas por Injeção em Fluxo Envolvendo Troca-Iônica: Configurações Básicas. Revisão. **Química Nova**, v. 16, n. 2, 1983.
222. ZAGATTO, E.A.G.; OLIVEIRA, C.C.; COLLINS, C.H.; Classificação e definição dos métodos de análises em fluxo - Recomendações - IUPAC 1994. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 143-146, 1999.
223. ZATTA, F.N.; FREIRE, H.V. DE L.; CASTRO, M.L. de; COSER, M.B.; RICARDINO, Á.; Um estudo da inserção dos medicamentos genéricos no mercado brasileiro. **VIII Congresso del Instituto Internacional de Costos**, 2003, Punta Del Este - Uruguai. 26 a 28 de nov. 2003.
224. ZHAO, L.; LI, BAOXIN; ZHANG, Z.; LIN, J-M.; Chemiluminescent flow-through sensor for Automated Dissolution Testing of Analgin Tablets using Manganese Dioxide as Oxidate. **Sensors and Actuators B**, v. 97, p. 266-271, 2004.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Resultados das Amostras de Medicamento

Método Oficial

- Comprimidos e Cápsulas

Tabela 24 - Resultados das amostras (comprimido e cápsulas) obtidos através do Método Oficial.

AMOSTRA	VALOR ROTULADO (mg)	DATA DE ANÁLISE	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	CV (%)	ER(%)
			MASSA DE DIPIRONA (mg) (n=3)			
1	500	21/abr	565,1	1,3	0,2	13,0
		28/abr	565,1	1,4	0,2	13,0
		30/abr	566,2	1,0	0,2	13,2
2	500	21/abr	582,4	1,5	0,3	16,5
		28/abr	582,1	0,5	0,1	16,4
		30/abr	581,9	0,9	0,2	16,4
3	250	21/abr	310,5	0,3	0,1	24,2
		28/abr	310,7	0,2	0,1	24,3
		30/abr	310,5	0,7	0,2	24,2
4	500	21/abr	581,9	1,9	0,3	16,4
		28/abr	580,8	0,9	0,2	16,2
		30/abr	581,5	4,0	0,7	16,3
5	500	21/abr	599,9	1,0	0,2	19,9
		28/abr	600,8	0,8	0,1	20,1
		30/abr	599,5	2,5	0,4	19,9
6	500	21/abr	575,6	2,3	0,4	15,1
		28/abr	575,6	0,6	0,1	15,1
		30/abr	574,5	1,0	0,2	14,9
7	500	21/abr	500,5	0,8	0,2	0,1
		28/abr	501,4	2,3	0,5	0,3
		30/abr	501,4	0,8	0,2	0,3

ER = Erro relativo referente ao resultado obtido pelo Método Proposto e o valor Rotulado;

Tabela 24 - Continuação. Resultados das amostras (comprimido e cápsulas) obtidos através do Método Oficial

AMOSTRA	VALOR ROTULADO (mg)	DATA DE ANÁLISE	MÉDIA			
			MASSA DE DIPIRONA (mg) (n=3)	DESVIO PADRÃO	CV (%)	ER(%)
8	500	21/abr	500,9	2,3	0,5	0,2
		28/abr	501,5	1,3	0,2	0,3
		30/abr	501,6	1,2	0,2	0,3
9	500	21/abr	536,1	1,4	0,3	7,2
		28/abr	536,5	0,6	0,1	7,3
		30/abr	538,2	1,4	0,3	7,6
10	500	21/abr	484,3	1,4	0,3	-3,1
		28/abr	484,7	0,2	0,1	-3,1
		30/abr	484,9	1,1	0,2	-3,0
11	500	21/abr	500,0	0,7	0,1	0,1
		28/abr	500,9	1,8	0,4	0,2
		30/abr	500,6	1,0	0,2	0,1
12	500 (+65mg CAFEÍNA)	21/abr	541,8	1,1	0,2	8,4
		28/abr	540,3	2,5	0,5	8,1
		30/abr	541,8	2,7	0,5	8,3
13	500 (+65mg CAFEÍNA)	21/abr	504,7	3,3	0,6	0,9
		28/abr	501,3	1,1	0,2	0,3
		30/abr	500,0	1,64	0,3	0,1
14	300 (+35mg CITRATO DE ORFENADRINA + 50mg CAFEÍNA)	21/abr	275,7	1,7	0,6	-8,1
		28/abr	275,9	0,7	0,2	-8,0
		30/abr	274,8	0,7	0,2	-8,4
15	300 (+30mg MUCATO DE ISOMEPTENO + 30mg CAFEÍNA)	21/abr	370,0	0,5	0,1	23,3
		28/abr	370,7	0,7	0,2	23,5
		30/abr	372,2	1,1	0,3	24,1
16	500 (+10mg CLORIDRATO DE ADIFENINA + 5mg CLORIDRATO DE PROMETAZINA)	21/abr	516,5	0,7	0,2	3,3
		28/abr	518,4	0,7	0,1	3,7
		30/abr	518,4	0,8	0,2	3,7

ER = Erro relativo referente ao resultado obtido pelo Método Proposto e o valor Rotulado;

- Solução Oral

Tabela 25 - Resultados das amostras (soluções orais) obtidos através do Método Oficial.

AMOSTRA	VALOR ROTULADO (mg mL)	DATA DE ANÁLISE	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	CV (%)	ER%
			MASSA / mL DE DIPIRONA (mg) (n=3)			
17	500	14/mai	439,1	0,9	0,2	-12,2
		17/mai	439,4	0,6	0,2	-12,1
18	500	14/mai	500,8	2,4	0,5	0,1
		17/mai	500,0	2,4	0,5	0,1
19	500	14/mai	498,9	2,4	0,5	-0,2
		17/mai	498,2	3,5	0,7	-0,3
20	500	14/mai	469,1	2,3	0,5	-6,2
		17/mai	467,5	0,0	0,0	-6,5
21	500	14/mai	324,2	4,7	1,4	-35,2
		17/mai	324,6	2,3	0,7	-35,1
22	500	14/mai	492,9	2,3	0,5	-1,4
		17/mai	492,0	3,1	0,6	-1,6
23	500	14/mai	503,5	0,1	0,1	0,7
		17/mai	501,7	2,4	0,5	0,3
24	300	14/mai	285,0	1,5	0,5	-5,0
		17/mai	285,6	2,3	0,8	-4,8
25	300	14/mai	302,4	2,3	0,8	0,8
		17/mai	303,4	0,1	0,1	1,1
26	500	14/mai	464,5	2,4	0,5	-7,1
		17/mai	464,9	2,0	0,4	-7,0

ER = Erro relativo referente ao resultado obtido pelo Método Proposto e o valor Rotulado;

Método Adaptado

- **Comprimidos e Cápsulas**

Tabela 26 - Resultados das amostras (comprimido e cápsulas) obtidos através do Método Adaptado.

AMOSTRA	VALOR ROTULADO (mg)	DATA DE ANÁLISE	MÉDIA MASSA DE DIPIRONA (mg) (n=3)	DESVIO PADRÃO	CV (%)	ER (%)
1	500	04/mai	564,9	1,6	0,3	12,9
		05/mai	562,6	0,5	0,1	12,5
		07/mai	563,4	0,2	0,1	12,7
2	500	04/mai	601,1	1,0	0,2	20,2
		05/mai	600,9	0,4	0,1	20,2
		07/mai	598,9	1,9	0,3	19,8
3	250	04/mai	318,5	0,8	0,2	27,4
		05/mai	317,1	0,5	0,1	26,8
		07/mai	317,7	0,4	0,1	27,1
4	500	04/mai	579,6	1,8	0,3	15,9
		05/mai	579,8	0,9	0,2	15,9
		07/mai	579,1	0,5	0,1	15,8
5	500	04/mai	599,6	0,4	0,1	19,9
		05/mai	598,9	0,5	0,1	19,7
		07/mai	599,9	0,7	0,1	19,9
6	500	04/mai	563,2	0,7	0,1	12,6
		05/mai	563,5	0,2	0,1	12,7
		07/mai	564,6	0,4	0,1	12,9
7	500	04/mai	500,4	0,5	0,2	0,1
		05/mai	500,2	0,6	0,1	0,1
		07/mai	500,5	1,9	0,4	0,1

ER = Erro relativo referente ao resultado obtido pelo Método Proposto e o valor Rotulado;

Tabela 26 - Continuação. Resultados das amostras (comprimido e cápsulas) obtidos através do Método Adaptado.

AMOSTRA	VALOR ROTULADO (mg)	DATA DE ANÁLISE	MÉDIA MASSA DE DIPIRONA (mg) (n=3)	DESVIO PADRÃO	CV (%)	ER (%)
8	500	04/mai	501,7	0,2	0,1	0,3
		05/mai	500,1	1,2	0,2	0,1
		07/mai	500,5	1,2	0,2	0,1
9	500	04/mai	531,7	1,2	0,2	6,3
		05/mai	532,3	1,3	0,2	6,5
		07/mai	531,2	1,1	0,2	6,2
10	500	04/mai	484,9	0,5	0,1	-3,1
		05/mai	483,2	1,0	0,2	-3,3
		07/mai	484,4	1,5	0,3	-3,1
11	500	04/mai	484,4	0,4	0,1	-3,1
		05/mai	484,2	0,6	0,1	-3,2
		07/mai	484,8	0,8	0,2	-3,0
12	500 (+65mg CAFEÍNA)	04/mai	543,6	0,8	0,2	8,7
		05/mai	544,5	0,8	0,1	8,9
		07/mai	543,6	0,7	0,1	8,7
13	500 (+65mg CAFEÍNA)	04/mai	499,1	1,0	0,2	-0,2
		05/mai	500,4	0,3	0,1	0,1
		07/mai	499,9	0,6	0,1	-0,1
14	300 (+35mg CITRATO DE ORFENADRINA + 50mg CAFEÍNA)	04/mai	300,2	0,5	0,2	0,1
		05/mai	299,5	1,1	0,4	-0,2
		07/mai	300,9	0,7	0,2	0,3
15	300 (+30mg MUCATO DE ISOMEPTENO + 30mg CAFEÍNA)	04/mai	375,4	0,6	0,2	25,1
		05/mai	376,1	1,0	0,3	25,4
		07/mai	375,1	0,5	0,1	25,0
16	500 (+10mg CLORIDRATO DE ADIFENINA + 5mg CLORIDRATO DE PROMETAZINA)	04/mai	518,8	1,0	0,2	3,8
		05/mai	517,9	0,2	0,1	3,6
		07/mai	517,8	0,7	0,1	3,5

ER = Erro relativo referente ao resultado obtido pelo Método Proposto e o valor Rotulado;

- Solução Oral

Tabela 27 - Resultados das amostras (soluções orais) obtidos através do Método Adaptado.

AMOSTRA	VALOR ROTULADO (mg mL ⁻¹)	DATA DE ANÁLISE	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	CV (%)	ER (%)
			MASSA / mL DE DIPIRONA (mg) (n=3)			
17	500	14/mai	439,2	0,6	0,1	-12,2
		17/mai	439,9	1,0	0,2	-12,0
18	500	14/mai	500,9	0,9	0,2	0,2
		17/mai	500,9	1,7	0,3	0,2
19	500	14/mai	494,3	1,1	0,2	-1,2
		17/mai	493,3	0,8	0,2	-1,3
20	500	14/mai	466,5	0,8	0,2	-6,7
		17/mai	466,9	0,4	0,1	-6,6
21	500	14/mai	304,7	0,9	0,3	-39,1
		17/mai	303,3	0,9	0,3	-39,3
22	500	14/mai	501,7	0,5	0,1	0,3
		17/mai	501,4	0,8	0,2	0,3
23	500	14/mai	500,2	0,8	0,2	0,1
		17/mai	501,9	0,8	0,2	0,4
24	300	14/mai	300,9	0,8	0,3	0,3
		17/mai	300,0	0,8	0,3	0,1
25	300	14/mai	305,0	1,8	0,6	1,7
		17/mai	304,2	0,8	0,3	1,4
26	500	14/mai	463,4	0,9	0,2	-7,3
		17/mai	463,1	0,6	0,1	-7,3

ER = Erro relativo referente ao resultado obtido pelo Método Proposto e o valor Rotulado;

Método Proposto

- Comprimidos e Cápsulas

Tabela 28 - Resultados das amostras (comprimidos e cápsulas) obtidos através do Método Proposto.

AMOSTRA	VALOR ROTULADO (mg)	DATA DE ANÁLISE	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	CV (%)	ER (%)
			MASSA DE DIPIRONA (mg) (n=3)			
1	500	18/jun	562,5	1,6	0,3	12,5
		22/jun	563,9	1,4	0,2	12,8
		28/jun	563,6	1,7	0,3	12,7
2	500	18/jun	580,9	0,6	0,1	16,2
		22/jun	581,4	0,1	0,1	16,3
		28/jun	581,4	0,1	0,1	16,3
3	250	18/jun	318,5	0,1	0,1	27,4
		22/jun	317,0	0,2	0,1	26,8
		28/jun	318,2	0,1	0,1	27,3
4	500	18/jun	582,9	0,6	0,1	16,6
		22/jun	581,8	0,7	0,1	16,4
		28/jun	581,0	0,2	0,1	16,2
5	500	18/jun	599,4	0,3	0,1	19,9
		22/jun	599,7	0,3	0,1	19,9
		28/jun	599,4	0,1	0,1	19,9
6	500	18/jun	575,1	1,1	0,4	15,0
		22/jun	575,0	1,2	0,4	15,0
		28/jun	577,2	0,8	0,4	15,5
7	500	18/jun	501,5	0,1	0,1	0,3
		22/jun	501,5	0,1	0,1	0,3
		28/jun	501,3	0,5	0,1	0,2

ER = Erro relativo referente ao resultado obtido pelo Método Proposto e o valor Rotulado;

Tabela 28 - Continuação. Resultados das amostras (comprimidos e cápsulas) obtidos através do Método Proposto.

AMOSTRA	VALOR ROTULADO (mg)	DATA DE ANÁLISE	MÉDIA MASSA DE DIPIRONA (mg) (n=3)	DESVIO PADRÃO	CV (%)	ER (%)
8	500	18/jun	501,0	0,7	0,1	0,2
		22/jun	501,7	0,1	0,1	0,3
		28/jun	500,4	1,1	0,2	0,1
9	500	18/jun	535,5	0,3	0,1	7,1
		22/jun	535,6	0,3	0,1	7,1
		28/jun	535,7	0,5	0,1	7,1
10	500	18/jun	484,7	0,1	0,1	-3,1
		22/jun	484,9	0,4	0,1	-3,0
		28/jun	484,8	0,1	0,1	-3,0
11	500	18/jun	484,4	1,4	0,3	-3,1
		22/jun	484,6	0,1	0,1	-3,1
		28/jun	485,3	1,9	0,4	-2,9
12	500 (+65mg CAFEÍNA)	18/jun	544,8	0,6	0,1	8,9
		22/jun	543,6	1,5	0,1	8,7
		28/jun	544,8	1,7	0,3	8,9
13	500 (+65mg CAFEÍNA)	18/jun	499,7	0,9	0,2	-0,1
		22/jun	499,7	0,2	0,1	-0,1
		28/jun	499,3	0,6	0,1	-0,1
14	300 (+35mg CITRATO DE ORFENADRINA + 50mg CAFEÍNA)	18/jun	299,7	1,0	0,2	-0,1
		22/jun	299,2	1,4	0,5	-0,3
		28/jun	300,7	1,6	0,5	0,2
15	300 (+30mg MUCATO DE ISOMEPTENO + 30mg CAFEÍNA)	18/jun	375,2	1,0	0,1	25,1
		22/jun	375,2	1,6	0,4	25,1
		28/jun	375,4	0,4	0,1	25,1
16	500 (+10mg CLORIDRATO DE ADIFENINA + 5mg CLORIDRATO DE	18/jun	517,4	1,0	0,2	3,5
		22/jun	516,7	0,5	0,1	3,3
		28/jun	516,9	0,5	0,1	3,4

PROMETAZINA)

ER = Erro relativo referente ao resultado obtido pelo Método Proposto e o valor Rotulado;

- Solução Oral

Tabela 29 - Resultados das amostras (soluções orais) obtidos através do Método Proposto.

AMOSTRA	VALOR ROTULADO (mg mL ⁻¹)	DATA DE ANÁLISE	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	CV(%)	ER(%)
			MASSA / mL DE DIPIRONA (mg) (n=3)			
17	500	30/jun	438,9	1,3	0,3	-12,2
		01/jul	439,7	0,3	0,1	-12,1
18	500	30/jun	502,4	1,4	0,3	0,5
		01/jul	503,3	1,4	0,3	0,6
19	500	30/jun	497,2	1,0	0,2	-0,5
		01/jul	498,5	0,4	0,1	-0,3
20	500	30/jun	465,4	1,5	0,1	-6,9
		01/jul	465,1	1,6	0,1	-6,9
21	500	30/jun	301,6	1,3	0,4	-39,7
		01/jul	302,3	1,3	0,4	-39,5
22	500	30/jun	500,8	1,3	0,3	0,2
		01/jul	501,2	1,7	0,3	0,2
23	500	30/jun	500,1	1,3	0,3	0,1
		01/jul	500,9	0,6	0,1	0,2
24	300	30/jun	300,9	0,6	0,2	0,3
		01/jul	299,7	0,7	0,2	-0,1
25	300	30/jun	301,2	0,6	0,2	0,4
		01/jul	300,8	0,1	0,1	0,3
26	500	30/jun	467,9	0,5	0,1	-6,4
		01/jul	466,6	1,0	0,2	-6,7

ER = Erro relativo referente ao resultado obtido pelo Método Proposto e o valor Rotulado;

APÊNDICE B - Resultados do Teste F

Tabela 30 - Avaliação através do Teste F de resultados obtidos pela Metodologia Oficial e Metodologia Proposta para diferentes amostras de formulações farmacêuticas com princípio ativo dipirona

AMOSTRA	MÉTODO OFICIAL (MO) (n=3)	MÉTODO PROPOSTO (MP) (n=3)	s ² MO ^a	s ² MP ^b	Teste F	95%
1	565,1	562,5	1,69	2,56	1,51	19,00
2	582,1	580,9	0,25	0,36	1,44	19,00
3	310,5	317,0	0,09	0,01	9,00	19,00
4	580,8	581,0	0,81	0,04	16,00	19,00
5	599,9	599,4	1,00	0,09	11,11	19,00
6	574,5	575,0	1,00	1,21	1,21	19,00
7	500,5	501,3	0,64	0,25	2,56	19,00
8	500,9	500,4	5,29	1,21	4,37	19,00
9	536,1	535,7	1,96	0,25	7,84	19,00
10	484,9	484,9	1,21	0,16	7,56	19,00
11	500,0	485,3	0,49	3,61	7,37	19,00
12	540,3	543,6	6,25	2,25	2,77	19,00
13	500,0	499,7	2,56	0,04	64	19,00
14	275,9	299,7	0,49	1,00	2,04	19,00
15	370,0	375,4	0,25	0,16	1,56	19,00
16	516,5	516,7	0,49	0,25	1,96	19,00
17	439,4	439,7	0,36	0,04	9,00	19,00
18	500,0	502,4	5,76	1,96	2,94	19,00
19	498,9	498,5	5,76	0,04	144,00	19,00
20	469,1	465,4	5,29	2,25	2,35	19,00
21	324,6	302,3	5,29	1,69	3,13	19,00
22	492,9	500,8	5,29	1,69	3,13	19,00
23	501,7	500,1	5,76	1,69	3,41	19,00
24	285,6	299,7	5,29	0,49	10,79	19,00
25	302,4	300,8	5,29	1,69	3,13	19,00
26	464,9	467,9	4,00	1,96	2,04	19,00

a = Quadrado do desvio padrão de um conjunto de medidas obtido através do Método Oficial; b = Quadrado do desvio padrão de um conjunto de medidas obtido através do Método Proposto.

Tabela 31 - Avaliação através do Teste F de resultados obtidos pelo Método Adaptado e Método Proposto para diferentes amostras de formulações farmacêuticas com princípio ativo dipirona

AMOSTRA	MÉTODO ADAPTADO (MA) (n=3)	MÉTODO PROPOSTO (MP) (n=3)	s ² MA ^a	s ² MP ^b	Teste F	95%
1	562,6	562,5	0,25	2,56	10,24	19,00
2	598,9	580,9	3,61	0,36	10,03	19,00
3	317,1	317,0	0,25	0,01	6,25	19,00
4	579,1	581,0	0,25	0,04	6,25	19,00
5	598,9	599,4	0,25	0,09	2,77	19,00
6	563,2	575,0	0,49	1,21	2,46	19,00
7	500,2	501,3	0,36	0,25	1,44	19,00
8	500,1	500,4	1,44	1,21	1,19	19,00
9	531,2	535,7	1,21	0,25	4,84	19,00
10	484,9	484,9	0,25	0,16	1,56	19,00
11	484,8	485,3	0,64	3,61	5,64	19,00
12	543,6	543,6	0,49	2,25	4,59	19,00
13	500,4	499,7	0,09	0,04	2,25	19,00
14	300,2	299,7	0,25	1,00	4,00	19,00
15	375,1	375,4	0,25	0,16	1,56	19,00
16	517,8	516,7	0,49	0,25	1,96	19,00
17	439,9	439,7	1,0	0,09	11,11	19,00
18	500,9	502,4	0,81	1,96	2,42	19,00
19	494,3	498,5	1,21	0,16	7,562	19,00
20	466,9	465,4	0,16	2,25	14,06	19,00
21	304,7	302,3	0,81	1,69	2,09	19,00
22	501,7	500,8	0,25	1,69	6,76	19,00
23	500,2	500,1	0,64	1,69	2,64	19,00
24	300,0	299,7	0,64	0,49	1,31	19,00
25	304,2	300,8	0,64	1,69	2,64	19,00
26	463,1	467,9	0,36	1,96	5,44	19,00

a = Quadrado do desvio padrão de um conjunto de medidas obtido através do Método Adaptado; b = Quadrado do desvio padrão de um conjunto de medidas obtido através do Método Proposto.

Aqui, portal da beleza
A minha riqueza
É viver aqui, aqui

Aqui, o melhor lugar do mundo
De um verde mar profundo
Onde o sol vem iluminar

Fortaleza é de todas a mais bela
Teu sorriso é uma pintura, uma aquarela
Que me fascina, que me alucina o coração

Eu sou daqui
Filho do sol
Dessa grandeza
Trago no peito o meu amor
por Fortaleza

Eu sou daqui
Filho do sol
Dessa grandeza
E me orgulho de “ser de” Fortaleza

A mais bela - Waldonys

*“De tudo ficaram três coisas:
a certeza de que estamos sempre começando,
a certeza de que é preciso continuar e
a certeza de que somos interrompidos antes de terminar.*

*Portanto,
devemos fazer da interrupção um caminho novo,
da queda um passo de dança,
do medo uma escada,
do sonho uma ponte,
da procura um encontro.”*

Fernando Pessoa

*“...Sonhe com aquilo que você quiser.
Seja o que você quer ser,
porque você possui apenas uma vida
e nela só se tem uma chance
de fazer aquilo que se quer.*

*Tenha felicidade bastante para fazê-la doce.
Dificuldades para fazê-la forte.
Tristeza para fazê-la humana.
E esperança suficiente para fazê-la feliz.*

*As pessoas mais felizes
não têm as melhores coisas.
Elas sabem fazer o melhor
das oportunidades que aparecem
em seus caminhos.*

*A felicidade aparece para aqueles que choram.
Para aqueles que se machucam.
Para aqueles que buscam e tentam sempre.
E para aqueles que reconhecem
a importância das pessoas que passam por suas vidas.*

*O futuro mais brilhante
é baseado num passado intensamente vivido.
Você só terá sucesso na vida
quando perdoar os erros
e as decepções do passado.*

*A vida é curta, mas as emoções que podemos deixar
duram uma eternidade.
A vida não é de se brincar
porque um belo dia se morre.”*

Clarice Lispector