

DETERMINAÇÃO TURBIDIMÉTRICA DE DIPYRONA EM FLUXO UTILIZANDO UM REATOR CONTENDO CLORETO DE PRATA IMOBILIZADO EM RESINA POLIÉSTER

Luiz H. Marcolino-Jr., Viviane Gomes Bonifácio e Orlando Fatibello-Filho*

Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, CP 676, 13560-970 São Carlos - SP

Marcos F. S. Teixeira

Universidade Estadual Paulista, Unidade São Vicente, 11330-900 São Vicente - SP

Recebido em 6/5/04; aceito em 11/2/05; publicado na web em 30/6/05

FLOW INJECTION TURBIDIMETRIC DETERMINATION OF DIPYRONE USING A SOLID-PHASE REACTOR CONTAINING SILVER CHLORIDE IMMOBILIZED IN A POLYESTER RESIN. A simple flow injection procedure was developed for determining dipyrone (1-phenyl-2,3-dimethyl-4-methylaminomethano-5-pyrazolone sodium, metamizol, analgin) in pharmaceutical formulations. The determination is based on the reduction of Ag^+ ions to Ag^0 by dipyrone. A colloidal suspension of Ag^0 produced was transported by carrier solution ($0.01 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaOH}$) and turbidimetrically detected at 425 nm. The analytical curve for dipyrone was linear in the range from 5.0×10^{-4} to $2.5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ with a correlation coefficient of 0.9990. The detection limit was $1.3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ($3\sigma_B/\text{slope}$). The relative standard deviation for ten successive measurements was 1.8% and an analytical frequency of 45 h^{-1} was obtained. The recovery values from three samples ranged from 96.0 to 102%.

Keywords: dipyrone; flow injection turbidimetry; solid-phase reactor.

INTRODUÇÃO

A dipirona (sal de sódio do 1-fenil-2,3-dimetil-4-metilaminometanossulfonato-5-pirazolona) é um pó cristalino branco, solúvel em água e álcool, que apresenta atividades analgésicas e antipiréticas¹. Essa droga é rapidamente absorvida após administração oral e amplamente metabolizada. Quimicamente, a dipirona é um derivado 5-pirazolônico com a presença de um grupo metanossulfônico na estrutura (Figura 1). É comercializada principalmente na forma sódica (solução oral, injetável e comprimidos) sendo que 80% das vendas são feitas sem prescrição médica. Existem no país cerca de 125 produtos à base de dipirona, sendo 71 em associação a outras substâncias.

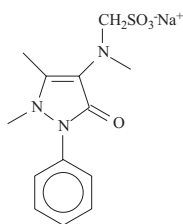


Figura 1. Estrutura molecular da dipirona

Diversos procedimentos são descritos na literatura para determinação de dipirona. Vassileva-Alexandrova e Shishmanov² propuseram um procedimento para determinação de dipirona baseado na reação desse fármaco com o reagente cloreto de neotetrazólio, produzindo um composto amarelo solúvel em meio de etanol-HCl. O método mostrou-se bastante seletivo e preciso na determinação de dipirona em produtos farmacêuticos, em amostras contendo de $1,0$ a $5,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ do fármaco.

Sakiara *et al.*³ desenvolveram um método baseado na oxidação seletiva da dipirona na presença de ácido sulfúrico, promovendo a formação de formaldeído, que reage com o ácido cromotrópico produzindo um composto violeta, monitorado espectrofotometricamente em 575 nm. O procedimento apresentou uma resposta linear no intervalo de concentração de dipirona de $0,57$ a $5,7 \text{ mg L}^{-1}$ ($1,6 \times 10^{-6}$ a $1,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) mostrando-se preciso e seletivo na determinação de dipirona em produtos farmacêuticos.

Bautista *et al.*⁴ determinaram a dipirona indiretamente, utilizando um reator em fase sólida contendo PbO_2 acoplado a um sistema de análise por injeção em fluxo. O método é baseado na reação do fármaco no reator, promovendo simultaneamente a oxidação da dipirona e a liberação de íons Pb(II) . Estes íons agem como catalizadores na reação entre vermelho de pirogalo e persulfato de potássio, resultando na diminuição da coloração da solução. A diminuição da absorbância foi monitorada em 520 nm e a frequência analítica obtida foi de 72 determinações por hora. Com esse procedimento, foi possível determinar dipirona no intervalo de concentração de $5,7 \times 10^{-6}$ a $4,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

A determinação espectrofotométrica proposta por Qureshi *et al.*⁵ baseia-se na redução de íons Fe(III) por ação da dipirona e subsequente complexação dos íons Fe(II) com 1,10-fenantrolina, que produz um complexo vermelho, monitorado em 500 nm. Esse mesmo grupo de pesquisadores desenvolveu outro procedimento onde a dipirona foi oxidada por uma solução de iodato de potássio em meio ácido, produzindo um composto de coloração amarela, monitorado espectrofotometricamente em 460 nm⁶.

Vários outros métodos são descritos na literatura para determinação de dipirona por detecção espectrofotométrica⁷⁻¹¹, fluorimétrica¹², eletroquímica¹³⁻¹⁵, por quimiluminescência¹⁶⁻¹⁸ e HPLC¹⁹⁻²³. Entretanto, alguns desses procedimentos são de alto custo, enquanto outros são trabalhosos e/ou requerem profissionais com boa capacitação, pois muitos destes procedimentos envolvem diversas etapas analíticas.

*e-mail: bello@dq.ufscar.br

O emprego de reagentes em fase sólida (RFS) acoplados a sistemas de análise por injeção em fluxo tem sido amplamente explorado atualmente. Os RFS têm sido usados para diferentes propósitos, incluindo pré-concentração, conversão de amostras, imobilização de enzimas e produção *in situ* de reagentes instáveis²⁴.

Neste trabalho, um reator em fase sólida contendo AgCl foi inserido em um sistema de análise por injeção em fluxo de linha única, para atuar como fonte de íons Ag⁺, e aplicado na determinação de dipirona. O procedimento está baseado na propriedade redutora da dipirona. Os íons Ag⁺ contidos no reator são reduzidos pela dipirona a Ag⁰ que é, então, detectada turbidimetricamente em 425 nm. A concentração de dipirona injetada no sistema é proporcional à quantidade de Ag⁰ gerada.

PARTE EXPERIMENTAL

Equipamentos

Um diagrama esquemático do sistema em fluxo é mostrado na Figura 2. Para propulsão das soluções de referência, amostras e solução transportadora foi utilizada uma bomba peristáltica Ismatec de 12 canais, modelo 7618-50 com tubos de propulsão de Tygon® de diferentes diâmetros internos; tubos de polietileno de 0,8 mm de diâmetro interno e conectores de acrílico. As soluções de referência ou amostras foram injetadas utilizando um injetador-comutador manual duplo construído em acrílico²⁵. Todas as medidas espectrofotométricas foram obtidas utilizando-se um espectrofotômetro de feixe simples Femto, modelo 435 equipado com uma célula espectrofotométrica com caminho ótico de 1,00 cm, acoplado a um registrador Cole Parmer modelo 1202-000.



Figura 2. Diagrama esquemático do sistema de análise por injeção em fluxo para determinação turbidimétrica de dipirona. T, solução transportadora (NaOH 0,01 mol L⁻¹) com vazão de 2,0 mL min⁻¹; A, soluções de referência ou amostra (alça de amostragem = 375 µL); RFS, reator em fase sólida contendo AgCl (8,5 cm x 2,0 mm d.i.); B, bobina reacional (50 cm); E, espectrofotômetro (425 nm); D, descarte

Reagentes e soluções

Dipirona sódica (Boheringer Ingelheim), NaOH (Merck), resina poliéster (Resapol T-208, Resana) e peróxido de metiletilcetona (Iberê, Ramires & Cia) foram utilizados neste trabalho.

Foram preparadas várias soluções de NaOH em diferentes concentrações, dissolvendo-se massas adequadas dessa base em água desionizada. A solução estoque de dipirona 10 mmol L⁻¹ foi preparada diariamente dissolvendo-se 0,1757 g de dipirona em 50 mL de água desionizada. Soluções contendo entre 5,0 x 10⁻⁴ e 2,5 x 10⁻³ mol L⁻¹ de dipirona foram preparadas por diluição da solução estoque em água desionizada.

Determinação de dipirona em amostras comerciais

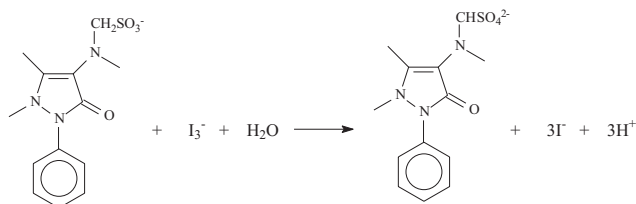
Amostras contendo dipirona foram adquiridas no comércio e analisadas pelo método proposto.

Alíquotas de 700 µL das soluções foram transferidas para balões volumétricos de 100 mL e diluídas para o volume com água

desionizada. Diluições posteriores foram realizadas até a obtenção de uma concentração final teórica de 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ de dipirona.

Método comparativo

Os resultados obtidos pelo método proposto foram comparados com aqueles obtidos pelo método oficial da farmacopéia brasileira²⁶ que consiste na titulação iodimétrica de dipirona, baseada na oxidação do grupo metanossulfônico a sulfato em meio ácido, de acordo com a reação:



Cada 1,0 mL da solução de iodo 0,05 mol L⁻¹ corresponde a 16,67 mg de dipirona sódica.

Preparação e imobilização do AgCl_(s)

O cloreto de prata foi preparado tratando-se 5,920 g de AgNO₃ em solução com 2,040 g de NaCl aquoso. O sólido branco de AgCl obtido foi lavado com água desionizada e seco em ambiente escuro, à temperatura ambiente por 2 dias.

Diversas proporções ponderais de resina poliéster e cloreto de prata foram misturadas em frascos de polietileno. Após homogeneização manual, 0,5 mL do catalisador (peróxido de metiletilcetona) foram adicionados. A mistura foi deixada à temperatura ambiente por 3-4 h. O sólido rígido obtido foi quebrado com martelo e um moinho multiuso Tecnal (mod. TE 631/1) foi utilizado para obter partículas de menor granulometria. A seleção do tamanho das partículas foi realizada usando-se peneiras com granulometria apropriada.

Cerca de 350 mg das partículas de poliéster com granulometria entre 100-350 µm contendo AgCl foram introduzidas, por aspiração com uma seringa, dentro de tubos de polietileno (d.i. 2,0 mm e vários comprimentos) com uma das extremidades vedada com lâ de vidro para prevenir a saída das partículas da coluna.

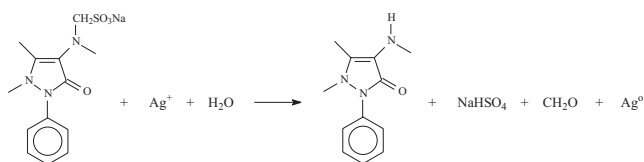
Sistema de análise por injeção em fluxo

O diagrama esquemático do sistema de análise por injeção em fluxo utilizado está representado na Figura 2. Alíquotas de 375 µL (soluções de referência ou amostras) foram injetadas na solução transportadora (NaOH 0,01 mol L⁻¹) utilizando-se um injetador comutador-manual. Soluções de dipirona com concentrações variando entre 5,0 x 10⁻⁴ e 2,5 x 10⁻³ mol L⁻¹, quando injetadas na solução transportadora, passam pelo reator em fase sólida reduzindo os íons Ag⁺ a uma suspensão coloidal de prata metálica (Ag⁰), que é liberada pela reação e monitorada turbidimetricamente em 425 nm (Esquema 1).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudos preliminares

Diversas soluções foram avaliadas como solução transportadora para verificar seu efeito sobre o sinal analítico. Nestes experimentos, a vazão da solução transportadora foi de 3,0 mL min⁻¹,



Esquema 1.

volume de amostragem de 250 μL , percurso analítico de 50 cm e um reator em fase sólida (7,0 cm x 2,0 mm d.i.; tamanho de partícula 100-350 μm contendo AgCl imobilizado em resina poliéster na proporção 1:1). Soluções como borato de sódio $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, tampão borato 0,10 mol L^{-1} (pH 8,0 e 9,0), tampão carbonato 0,10 mol L^{-1} (pH 8,0; 9,0 e 10) e soluções de NaOH ($1,0 \times 10^{-4}$; $1,0 \times 10^{-3}$; $1,0 \times 10^{-2}$ e $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$) foram testadas e avaliadas quanto à repetibilidade, reprodutibilidade, estabilidade da linha base e tempo de limpeza do sistema FIA. Os melhores resultados em termos de sensibilidade e repetibilidade dos sinais de absorbância foram encontrados utilizando-se solução de NaOH 0,01 mol L^{-1} como solução transportadora. Em soluções tamponadas, os sinais de absorbância foram em torno de 70% menores apesar de se ter obtido maior estabilidade da linha base e menor tempo de limpeza. Em virtude dos melhores resultados em termos de magnitude do sinal analítico serem obtidos em meio básico, investigou-se a possibilidade da formação de AgOH, ou mesmo Ag_2O , no reator e estes reagirem com a dipirona. Para avaliar este efeito, foram testados reatores compostos por AgOH e Ag_2O no sistema em fluxo proposto, para uma solução de dipirona $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Tanto para AgOH como para Ag_2O , os sinais de absorbância decresceram cerca de 40% em comparação àqueles quando usado um reator com AgCl nas mesmas condições.

Em análises turbidimétricas, a adição de colóides protetores ou surfactantes é muitas vezes requerida com a finalidade de se obter uma eficiente nucleação uniforme, melhorando a reprodutibilidade das medidas²⁷. O efeito dos surfactantes polietilenoglicol e etilenoglicol, além do EDTA, para uma concentração de dipirona de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi avaliado sobre o sinal analítico. O uso destas soluções não surtiu qualquer diferença nas medidas de absorbância, independente da concentração adotada. Em virtude desses resultados, optou-se por não utilizar nenhum outro reagente no sistema proposto.

Estudo dos parâmetros do reator em fase sólida

Os principais fatores que afetam o desempenho do reator em fase sólida como composição em massa entre o AgCl e a resina de poliéster, diâmetro interno, comprimento do reator e tamanho das partículas foram avaliados. Com o objetivo de minimizar os efeitos de compactação do reator ao longo do tempo, submeteu-se o mesmo a uma passagem contínua da solução transportadora por volta de 15 min antes das injeções. Em termos práticos, o sinal analítico estabilizou-se após as primeiras 20-30 injeções das soluções de dipirona.

Três diferentes composições em massa entre AgCl e a resina de poliéster, 12,5; 25,0 e 50,0% (m/m) foram investigadas para verificar o efeito do aumento da concentração de íons Ag^+ na determinação de dipirona. Observou-se um aumento da sensibilidade com o aumento da concentração de íons Ag^+ incorporada à resina. Como a composição ponderal de 50,0% (m/m) resultou na máxima carga de $\text{AgCl}_{(s)}$ que pode ser agregada à matriz polimérica de poliéster, essa foi adotada em todo o trabalho.

O tamanho das partículas introduzidas no reator em fase sólida

também afeta sua eficiência. Considerando os resultados obtidos nos trabalhos anteriores do grupo²⁸⁻³¹, duas faixas de tamanhos de partículas foram investigadas neste trabalho (100-350 e 350-500 μm). A faixa de 100-350 μm resultou em uma melhor sensibilidade, provavelmente devido à maior superfície de contato das partículas contendo o reagente imobilizado com a zona de amostra injetada. Além disso, esse tamanho de partícula não apresenta dificuldades operacionais para empacotamento dos reatores ou problemas de pressão hidrodinâmica.

O efeito do diâmetro interno da coluna (1,0; 1,5; 2,0 e 3,0 mm) foi também avaliado em colunas preparadas com o mesmo comprimento (7,0 cm) e tamanho de partícula (100-350 μm). Colunas com 2,0 mm de diâmetro interno resultaram em uma melhor sensibilidade e estabilidade da linha base. Colunas com menores diâmetros internos apresentaram uma maior pressão hidrodinâmica, dificultando assim o fluxo das soluções. Por outro lado, as colunas com 3,0 cm de diâmetro interno apresentaram baixa reprodutibilidade do sinal analítico devido, provavelmente, à maior dispersão da zona de amostra. Além disso, é mais fácil reproduzir a preparação de colunas com 2,0 mm de diâmetro interno. Sendo assim, o diâmetro interno de 2,0 mm foi escolhido.

O tempo de reação entre a zona de amostra e o AgCl imobilizado no reator em fase sólida depende de dois fatores: vazão da solução transportadora e comprimento do reator em fase sólida. A influência do comprimento do reator foi avaliada na faixa de 3,0 a 14 cm com uma vazão da solução transportadora de 3,0 mL min^{-1} (Figura 3). A magnitude de absorbância aumentou gradualmente, no entanto, reatores com comprimentos superiores a 8,5 cm não tiveram um aumento significativo do sinal, tendo ainda como agravante o aumento do desvio padrão entre as medidas e um tempo maior de limpeza devido, principalmente, a um aumento acentuado da pressão hidrodinâmica no sistema. Desta maneira, reatores de 8,5 cm e 2,0 mm (d.i.) empacotados com AgCl imobilizado em resina poliéster na proporção de 50,0% (m/m) com tamanho de partículas na faixa de 100-350 μm foram então utilizados no restante do trabalho.

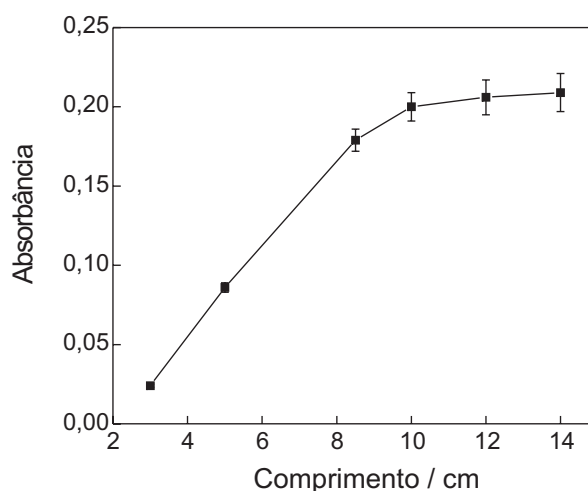


Figura 3. Efeito do comprimento do reator em fase sólida sobre o sinal analítico para uma concentração de dipirona $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ ($n = 5$), solução transportadora NaOH 0,01 mol L^{-1} a uma vazão de 2,0 mL min^{-1} , alça de amostragem de 375 mL e bobina helicoidal de 50 cm

Após a seleção dos parâmetros ideais com relação ao reator em fase sólida, manteve-se o mesmo reator durante as demais etapas de desenvolvimento do sistema para avaliar seu tempo de vida útil. Durante um período de 6 dias, foram realizadas cerca de 500 injeções de dipirona no intervalo de concentração de $2,5 \times 10^{-4}$ a $2,0 \times$

10^{-3} mol L⁻¹ e obtidas curvas analíticas periódicas. Comparando-se as inclinações destas curvas, observou-se uma queda nos sinais de absorvância por volta de 30% da resposta inicial após cerca de 500 injeções. Isso ocorre principalmente devido à formação de Ag₂O no reator que atua como um “agente passivador”, diminuindo muito a eficiência da reação. Na prática, o melhor é a obtenção de uma curva analítica em média, por volta de 100-300 injeções.

Estudo dos parâmetros do sistema em fluxo

O volume da amostra foi avaliado variando-se o comprimento da alça de amostragem entre 12,5 e 100 cm (62,5 e 500 µL) (Figura 4). A magnitude da absorvância aumentou gradativamente até 375 µL, permanecendo constante em volumes superiores. Isso se deve ao fato do volume da amostra ser superior ao volume do reator, não havendo assim uma interação efetiva entre sólido e solução. Desse modo, a quantidade de dipirona contida na alça de amostragem de 375 µL é a quantidade máxima para que haja uma reação efetiva para as dimensões do reator escolhido. Sendo assim, selecionou-se um volume de 375 µL de amostra para o restante do trabalho por apresentar, também, uma boa repetibilidade dos sinais.

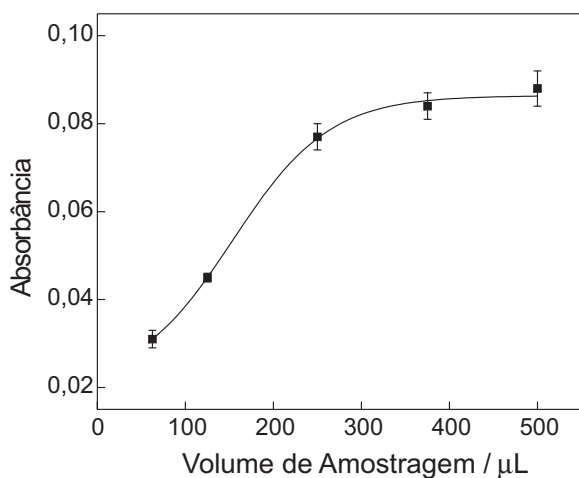


Figura 4. Efeito do volume da amostra sobre o sinal analítico para uma concentração de dipirona 1,0 mmol L⁻¹, a 25 °C (n = 5)

A Figura 5 mostra o efeito da vazão da solução transportadora variando de 1,0 a 5,1 mL min⁻¹ sobre o sinal analítico. Os sinais de absorvância foram decrescendo significativamente como o aumento da vazão devido, principalmente, ao menor tempo de contato entre a zona de amostra e o reator contendo AgCl(s). A vazão de 2,0 mL min⁻¹ foi escolhida como ótima, por apresentar uma boa combinação entre sensibilidade e frequência de amostragem e, também, estabilidade da linha base.

A influência da bobina helicoidal sobre o sinal analítico foi estudada na faixa de 50 a 200 cm. Os valores de absorvância decresceram com o aumento do comprimento, provavelmente devido à dispersão do produto formado na reação com o reator em fase sólida. Sendo assim, optou-se por usar um tamanho mínimo (50 cm) como bobina helicoidal neste trabalho.

Estudo de interferentes em potencial e teste de recuperação

O efeito de interferentes em potencial na determinação de dipirona em formulações farmacêuticas foi avaliado para excipientes normalmente presentes em amostras comerciais.

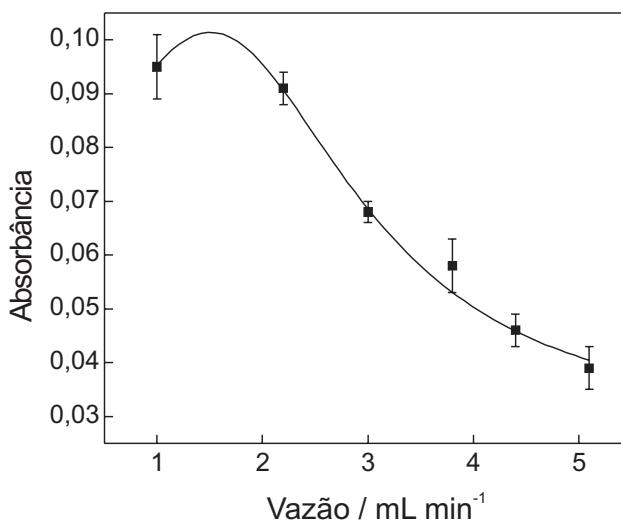


Figura 5. Efeito da vazão da solução transportadora sobre o sinal analítico para uma concentração de dipirona 1,0 mmol L⁻¹, a 25 °C (n = 5).

Nesses experimentos foram utilizadas soluções de referência de $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de dipirona com cada um dos possíveis interferentes (sorbitol, cloreto de sódio, sacarina, glicerina, sacarose, lactose, EDTA e bissulfito de sódio) em concentrações de $1,0 \times 10^{-3}$ e $1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹. Nenhuma das substâncias investigadas causou qualquer interferência na determinação de dipirona com exceção do bissulfito de sódio, que causou uma interferência positiva da ordem de 3,0 e 13% quando presente em concentrações igual ou 10 vezes superior à de dipirona, respectivamente. Como nos produtos farmacêuticos o teor de bissulfito de sódio é bem menor que o teor de dipirona, amostras contendo este composto associado puderam ser analisadas sem maiores problemas.

A Tabela 1 apresenta os resultados dos testes de adição e recuperação do analito, em três concentrações diferentes de dipirona adicionadas a três amostras de formulações farmacêuticas e os resultados comparados com aqueles obtidos com as amostras não adicionadas do padrão. Os valores percentuais de recuperação variaram entre 96,0 e 102% sugerindo, assim, ausência de interferência da matriz no procedimento proposto.

Curva analítica e aplicações

O método proposto foi aplicado para determinação de dipirona em produtos farmacêuticos. Soluções de referência de dipirona e soluções das amostras foram injetadas no sistema FIA apresentado na Figura 2. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 2.

A curva analítica foi linear no intervalo de concentração de dipirona entre $5,0 \times 10^{-4}$ e $2,5 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ ($A = 0,011 + 68,6 C$; $r = 0,9990$, onde A é a absorvância e C, a concentração de dipirona em mol L⁻¹) com um limite de detecção de $1,3 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ ($3\sigma_b/\text{inclinação}$). O desvio padrão relativo de 10 determinações sucessivas de dipirona $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ foi de 1,8% e a frequência de amostragem alcançada foi de 45 determinações por hora.

Os resultados obtidos empregando-se o método proposto estão em boa concordância com aqueles obtidos pelo procedimento oficial da farmacopéia brasileira²⁶ confirmando, assim, uma boa precisão do procedimento FIA desenvolvido.

Tabela 1. Estudo de adição e recuperação de dipirona adicionada a formulações farmacêuticas empregando o sistema em fluxo com detecção turbidimétrica

Amostra	Dipirona* / x 10 ⁻³ mol L ⁻¹		Recuperação/%
	Adicionado	Recuperado	
A	0,50	0,51 ± 0,02	102
	1,00	0,98 ± 0,02	98,0
	1,50	1,46 ± 0,03	97,3
B	0,50	0,49 ± 0,01	98,0
	1,00	0,97 ± 0,02	97,0
	1,50	1,48 ± 0,02	98,7
C	0,50	0,50 ± 0,01	100
	1,00	0,97 ± 0,03	97,0
	1,50	1,44 ± 0,02	96,0

* n = 5

Tabela 2. Determinação de dipirona em produtos farmacêuticos empregando-se o sistema FIA turbidimétrico proposto e o método iodimétrico

Amostras	Referência	Proposto	Er/%
A	471 ± 7	478 ± 3	+ 1,5
B	505 ± 3	478 ± 3	- 5,3
C	466 ± 6	459 ± 2	- 1,5
D	469 ± 5	482 ± 2	+ 2,8

valores em mg mL⁻¹; Er = Proposto vs Referência

CONCLUSÕES

O sistema FIA de linha única utilizando um reator contendo AgCl imobilizado em resina poliéster mostrou ser uma metodologia simples, rápida e com boa precisão na análise de dipirona em produtos farmacêuticos, além de dispensar qualquer pré-tratamento das amostras, inclusive aquelas contendo corantes.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP, CAPES e ao CNPq, pelo suporte financeiro e à Boehringer Ingelheim do Brasil pela dipirona sódica cedida, bem como ao CNPq pela bolsa de mestrado de V. G. Bonifácio e à FAPESP pelas bolsas de mestrado de L. H. Marcolino Jr. (Proc. no. 00/14988-8) e de pós-doutorado de M. F. S. Teixeira (Proc. no. 00/02997-2).

REFERÊNCIAS

- Korolkovas, A.; Burckhalter, J. H.; *Química Farmacêutica*, 1ª ed., Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 1988, p. 352.
- Vassileva-Alexandrova, P.; Shishmanov, P. S.; *Anal. Chem.* **1975**, *47*, 1432.
- Sakiara, K. A.; Pezza, L.; Melios, C. B.; Pezza, H. R.; De Moraes, M.; *Il Farmaco* **1999**, *54*, 629.
- Bautista, J. A. G.; Zamora, L. L.; Garcia-Mateo, J. V.; Martínez-Calatayud, J.; *Anal. Lett.* **1996**, *29*, 2667.
- Qureshi, S. Z.; Saeed, A.; Haque, S.; *Microchem. J.* **1990**, *41*, 362.
- Qureshi, S. Z.; Saeed, A.; Hassan, T.; *Talanta* **1989**, *36*, 869.
- Pereira, A. V.; Penckowski, L.; Vosgerau, M.; Sassa, M. F.; Fatibello-Filho, O.; *Quim. Nova* **2002**, *25*, 553.
- Buhl, F.; Hachula, U.; *Chem. Anal. (Warsaw, Pol.)* **1984**, *29*, 483.
- Buhl, F.; Hachula, U. *Chem. Anal. (Warsaw, Pol.)* **1981**, *26*, 395.
- Vassileva-Alexandrova, P.; *Mikrochim. Acta* **1976**, *2*, 247.
- Abdine, H.; Soliman, S. A.; Morcos, M. G.; *J. Pharm. Science* **1973**, *62*, 1834.
- Perez-Ruiz, T.; Martínez-Lozano, C.; Tomas, V.; Carpena, J.; *Microchem. J.* **1993**, *47*, 296.
- Perez-Ruiz, T.; Martínez-Lozano, C.; Tomas, V.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1994**, *12*, 1109.
- Matos, R. C.; Angnes, L.; Araujo, M. C. U.; Saldanha, T. C. B.; *Analyst* **2000**, *125*, 2011.
- Munoz, R. A. A.; Matos, R. C.; Angnes, L.; *J. Pharm. Sci.* **2001**, *90*, 1972.
- Huang, Y. M.; Zhang, C.; Zhang, X. R.; Zhang, Z. J.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1999**, *21*, 817.
- Huang, Y. M.; Zhang, C.; Zhang, X. R.; Zhang, Z. J.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1999**, *365*, 381.
- Huang, Y. M.; Zhang, C.; Zhang, X. R.; Zhang, Z. J.; *Anal. Lett.* **1999**, *32*, 933.
- Agundez, J. A. G.; Benitez, J.; *Ther. Drug Monit.* **1996**, *18*, 104.
- Tulaganov, A. A.; Mikhalev, A. V.; Osokina, L. M.; Arzamastsev, A. P.; *Khimiko-Farm. Zh.* **1992**, *26*, 76.
- Agundez, J. A. G.; Martinez, C.; Martin, R.; Benitez, J.; *Ther. Drug Monit.* **1994**, *16*, 316.
- Katz, E. Z.; Granit, L.; Drayer, D. E.; Levy, M.; *J. Chromatogr.* **1984**, *305*, 477.
- Eddine, N. H.; Bressolle, F.; Mandrou, B.; *Analyst* **1982**, *107*, 67.
- Martínez-Calatayud, J.; *Flow Injection Analysis of Pharmaceuticals. Automation in the Laboratory*, 1ª ed., Taylor & Francis: Bristol, 1996.
- Bergamin, F. H.; Reis, B. F.; Zagatto, E. A. G.; *Anal. Chim. Acta* **1978**, *97*, 427.
- Farmacopéia Brasileira*, 3ª ed., Atheneu Ed.; São Paulo, 1977.
- Heanes, D. L.; *Anal. Lett.* **1990**, *23*, 543.
- Fatibello-Filho, O.; Marcolino-Junior, L. H.; Pereira, A. V.; *Anal. Chim. Acta* **1999**, *384*, 167.
- Pereira, A. V.; Fatibello-Filho, O.; *Talanta* **1998**, *47*, 11.
- Marcolino-Júnior, L. H.; Teixeira, M. F. S.; Pereira, A. V.; Fatibello-Filho, O.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2001**, *25*, 393.
- Teixeira, M. F. S.; Marcolino-Júnior, L. H.; Fatibello-Filho, O.; *Il Farmaco* **2002**, *57*, 215.