

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA  
MESTRADO EM QUÍMICA ANALÍTICA**

**PAULO ROBERTO BARROS GOMES**

**DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE DICLOFENACO DE SÓDIO EM  
FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA EMPREGANDO O CONCEITO DE FIA-  
MULTICOMUTAÇÃO**

**São Luís – Ma  
2014**

**PAULO ROBERTO BARROS GOMES**

**DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE DICLOFENACO DE SÓDIO EM  
FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA EMPREGANDO O CONCEITO DE FIA - MUL-  
TICOMUTAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão para a obtenção do título de Mestre em Química Analítica.  
Orientador: Prof. Dr. Ridvan Nunes Fernandes

São Luís – MA  
2014

Gomes, Paulo Roberto Barros

Determinação espectrofotométrica de diclofenaco de sódio em formulação farmacêutica empregando o conceito de FIA-multicomutação/ Paulo Roberto Barros Gomes. – 2014.

56 f.

Impresso por computador ( fotocópia ).

Orientador: Ridvan Nunes Fernandes.

Dissertação ( mestrado ) – Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós – Graduação em Química, 2014.

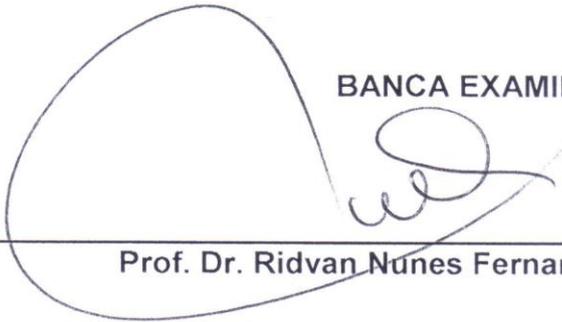
1. Diclofenaco – Análise espectrofotométrica 2. FIA I. Título

CDU 543.2:615.262.1

**Título:** “Determinação espectrofotométrica de diclofenaco de sódio em formulação farmacêutica empregando o conceito de FIA-Multicomutação”.

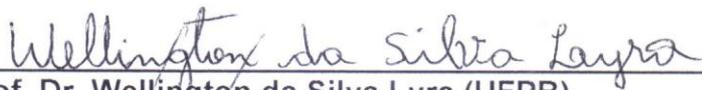
Paulo Roberto Barros Gomes  
Aprovado em 28 de março de 2014

BANCA EXAMINADORA:



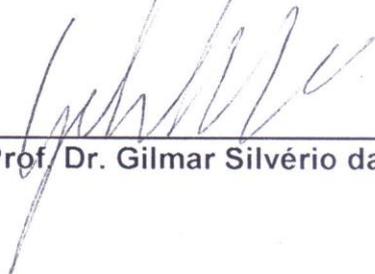
---

Prof. Dr. Ridvan Nunes Fernandes (Orientador UFMA)



---

Prof. Dr. Wellington da Silva Lyra (UFPB)



---

Prof. Dr. Gilmar Silvério da Silva (IFMA)

*Se o Senhor não edificar a casa, em vão trabalham os que a edificam; se o Senhor não guardar a cidade, em vão vigia a sentinela. Inútil vos será levantar de madrugada, repousar tarde, comer o pão de dores, pois assim dá ele aos seus amados o sono. Eis que os filhos são herança do Senhor, e o fruto do ventre o seu galardão. Como flechas na mão de um homem poderoso, assim são os filhos da mocidade. Bem-aventurado o homem que enche deles a sua aljava; não serão confundidos, mas falarão com os seus inimigos à porta.*

*Salmos 127:1-5*

*Dedico em especial...*

*Ao Senhor meu Deus, minha mãe Rosélia Barros Gomes e minha avó Laurinda do Nascimento da Hora Barros por todo amor, carinho, apoio, compreensão e ajuda em todos os momentos da minha vida.*

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar ao Senhor meu Deus, Todo-Poderoso, Senhor e único em minha vida, por estar comigo todos os dias e em todos os momentos, no qual sem Ele não teria chegado onde estou.

A minha mãe Rosélia Barros Gomes, a meu pai Raimundo Rodrigues Gomes, a minha avó Laurinda do Nascimento da Hora Barros e aos meus irmãos Derivaldo Barros Gomes, Radson Charlie Barros Gomes e Jackson Douglas Barros Gomes por toda compreensão, ajuda, dignidade, carinho e amor dado durante todo esse tempo e por toda a vida.

A Keully Cristina Pimenta Colins por sempre está ao meu lado me acompanhando, ajudando, apoiando e incentivando em todos os momentos.

Aos meus amigos Helson Souza Lima, Leandro Lima Carvalho, Kayni Lima, Deyvid Pires, Roberto Pereira, Raílson da Cunha, Marcos Moura, Thúlio César e Layse Naira pelo apoio e ajuda nas atividades experimentais, na vida e atividades acadêmicas.

Aos meus amigos da Universidade Federal da Paraíba Wellington Lyra, Francisco Cunha pela ajuda, apoio e amizade no momento em que estava na UFPB, assim como para a toda vida.

Ao professor, Dr. Ridvan Nunes Fernandes pela sua orientação, ajuda e companheirismo no desenvolvimento deste trabalho.

Ao grupo de pesquisa LPAA (UFMA), LAQA (UFPB), Professor Dr. Luciano Almeida, Msc. Francisco, além dos demais colegas que me ajudaram e incentivaram no decorrer deste trabalho.

A todos que diretamente e indiretamente estão comigo na jornada da vida.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 1** - Fórmula estrutural do diclofenaco de sódio ..... **18**
- FIGURA 2** - Linha do tempo com os principais analisadores automáticos em fluxo **25**
- FIGURA 3** - Diagrama esquemático de um sistema de análise em fluxo simples. (a) exemplos de sistemas para propulsão dos fluidos, (b) exemplos de sistemas de injeção, (c) exemplos de sistemas de mistura e (d) exemplos de detectores ..... **26**
- FIGURA 4** - Esquema de uma válvula solenoide e o processo de amostragem. A – amostra; V- válvula; R – reagente. (a) – inserção da amostra; (b) - fase inicial do transporte; (c) – fase final do transporte..... **31**
- FIGURA 5** - Módulo de análise do sistema em fluxo por multicomutação com válvulas solenoides por aspiração para determinar diclofenaco em formulação injetável. V1, V2, V3 – Válvulas solenoides; A – amostra (diclofenaco); R1 – reagente (permanganato de potássio  $4 \times 10^{-4}$  Mol. L<sup>-1</sup>); Ca – carregador (água deionizada); B – bomba peristáltica; R- reator; D – (detector): Espectrofotômetro; AB – amostra binária; T1 – tempo de acionamento da válvula V1; T2 – tempo de acionamento da válvula V2; T3 – tempo de acionamento da válvula V3; W – descarte. .... **36**
- FIGURA 6** - Espectro eletrônico para a reação diclofenaco com permanganato de potássio em mio ácido ( $\lambda$  máx. = 465 nm) ..... **37**
- FIGURA 7** - Estudo da vazão. Solução de referência de diclofenaco de sódio 40 mg.mL<sup>-1</sup>; Tempo de inserção da amostra 0,25 s; Tempo de inserção do reagente de 0,2 s; Bobina de 40 cm; Ciclo de amostragem 8 ..... **39**
- FIGURA 8** - Estudo do número de ciclos. Solução de referência de diclofenaco de sódio 40 mg.mL<sup>-1</sup>; Vazão de 3,5 mL.min<sup>-1</sup>; Tempo de inserção da amostra 0,25 s; Tempo de inserção do reagente de 0,2 s; Bobina de 40 cm ..... **40**
- FIGURA 9** - Estudo do comprimento da bobina. Solução de referência de diclofenaco de sódio 40 mg.mL<sup>-1</sup>; Vazão de 3,5 mL.min<sup>-1</sup>; Tempo de inserção da amostra 0,25 s; Tempo de inserção do reagente de 0,2 s; Número de ciclos: 8 ..... **41**
- FIGURA 10** - Estudo da concentração do reagente. Solução de referência de diclofenaco de sódio 40 mg.mL<sup>-1</sup>; Vazão de 3,5 mL.min<sup>-1</sup>; Tempo de inserção da amostra 0,25 s; Tempo de inserção do reagente de 0,2 s; Número de ciclos: 8; Bobina: 50 cm ..... **42**
- FIGURA 11** - Estudo do tempo de inserção do reagente. Solução de referência de diclofenaco de sódio 40 mg.mL<sup>-1</sup>; Vazão de 3,5 mL.min<sup>-1</sup>; Tempo de inserção da

amostra 0,25 s; Concentração do reagente:  $3 \times 10^{-4}$  Mol.L<sup>-1</sup>; Número de ciclos: 8; Bobina: 50 cm .....43

**FIGURA 12** - Estudo do tempo de inserção da amostra. Solução de referência de diclofenaco de sódio 40 mg.mL<sup>-1</sup>; Vazão de 3,5 mL.min<sup>-1</sup>; Tempo de inserção do reagente 0,2s; Concentração do reagente:  $3 \times 10^{-4}$  Mol.L<sup>-1</sup>; Número de ciclos: 8; Bobina: 50 cm.....45

**FIGURA 13** - Curva de Calibração obtida com os parâmetros otimizados do sistema em fluxo. Soluções de referência de diclofenaco de sódio 20, 40, 60 e 80 mg.mL<sup>-1</sup>; Vazão de 3,5 mL.min<sup>-1</sup>; Tempo de inserção do reagente 0,2s; Concentração do reagente:  $3 \times 10^{-4}$  Mol.L<sup>-1</sup>; Tempo de inserção da amostra 0,35 s; Número de ciclos: 8; Bobina: 50 cm.. .....47

**FIGURA 14** - Sinais transientes obtidos pelo estudo de repetibilidade. Solução de referência de diclofenaco de sódio 20 mg.mL<sup>-1</sup>; Vazão de 3,5 mL.min<sup>-1</sup>; Tempo de inserção do reagente 0,2s; Concentração do reagente:  $3 \times 10^{-4}$  Mol.L<sup>-1</sup>; Tempo de inserção da amostra 0,35 s; Número de ciclos: 8; Bobina: 50 cm.....48

## CRÉDITO DAS FIGURAS

- FIGURA 2** - Adaptada de BARRETO, I. S. Sistema fluxo-batelada monossegmentado: determinação espectrofotométrica de boro em plantas. João Pessoa, Programa de Pós-Graduação em Química, UFPB, 2012. Dissertação de Mestrado, 102p. ....**25**
- FIGURA 3** - Adaptada de LIMA, M.B. Um Micro Flow-Batch para Determinação Fotométrica e Turbidimétrica de Taninos em Amostras de Chás. João Pessoa, Programa de Pós-Graduação em Química, UFPB, 2010. Dissertação de Mestrado, 116p **25**
- FIGURA 4** - Adaptada de PEREIRA, A.C. Desenvolvimento de procedimento analítico empregando multicomutação em fluxo para determinação fotométrica de cloreto em amostras de coque de petróleo. São Paulo, Programa de Pós-Graduação em Química, USP, 2010. Dissertação de Mestrado, 73p .....**29**
- FIGURA 5** - Adaptada de NETO, J. J. C. Especificação Das Frações de Alumínio por Análise em Fluxo para o Entendimento do Processo de Coagulação Natural Do Rio Pericumã, Pinheiro – Ma. São Luís, Programa de Pós-Graduação em Química, UFMA, 2011. Dissertação de Mestrado, 113p.....**33**

## RESUMO

Os organismos internacionais e nacionais exigem o desenvolvimento de metodologias analíticas que sejam rápidas, baixo custo e precisas para a determinação de fármacos. Uma forma de atender a essas exigências foi utilizado um método de análise por injeção em fluxo empregando multicomutação e com detecção espectrofotométrica. Neste trabalho um sistema automático foi desenvolvido para determinar o diclofenaco de sódio em injetáveis. A reação é baseada na oxidação do diclofenaco de sódio com permanganato de potássio em meio ácido sendo esta monitorada a 465 nm. A curva de calibração foi linear no intervalo de concentração de 20-80 mg L<sup>-1</sup>, com um limite de detecção de 0,1 mg L<sup>-1</sup>, desvio padrão de 0,9% (n = 20) e taxa de amostragem de 80 determinações por hora. O método proposto foi aplicado com sucesso em três soluções injetáveis e as amostras foram comparadas com a metodologia oficial e outros métodos automáticos que empregam a mesma reação.

Palavras – chave: Diclofenaco. FIA. Espectrofotometria.

## ABSTRACT

International and national bodies require the development of analytical methods that are rapid, inexpensive and accurate for the determination of drugs. One way to meet these requirements a method of flow injection analysis employing multicommutation and spectrophotometric detection was used. In this paper an automated system was developed to determine diclofenac sodium in injectables. The reaction is based on the oxidation of diclofenac sodium with potassium permanganate in acid medium being monitored at 465 nm this. The calibration curve was linear over the concentration range of 20-80 mg L<sup>-1</sup> with a detection limit of 0.1 mg L<sup>-1</sup> standard deviation of 0.9% (n = 20) and Sample Rate 80 samples per hour. The proposed method was applied successfully in three injectable solutions and the samples were compared with the official method and other automated methods employing the same reaction.

Keywords: Diclofenac. FIA. Spectrophotometry.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
1.1 Caracterização da problemática .....	15
<b>1.2. OBJETIVOS</b> .....	<b>17</b>
1.2.1 Objetivo geral .....	17
1.2.2 Objetivos específicos .....	17
<b>1.3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>18</b>
1.3.1 Descrição do analito .....	18
1.3.2 Propriedades farmacocinéticas .....	19
1.3.3 Determinações de diclofenaco de sódio em formulações farmacêuticas e fluidos biológicos por espectrofotometria UV visível .....	21
<b>1.4 MÉTODOS AUTOMÁTICOS</b> .....	<b>24</b>
1.4.1 Análise em fluxo segmentado (SFA) .....	27
1.4.2 Análise por injeção em fluxo (FIA) .....	27
1.4.3 Análise em fluxo monossegmentado (MSFA).....	28
1.4.4 Análise por injeção sequencial (SIA).....	29
1.4.5 Análise em fluxo com multicomutação (MFA) .....	30
1.4.6 Analisador em fluxo batelada (FBA).....	31
1.4.7 Uso dos métodos automáticos com detecção espectrofotométrica para determinação de diclofenaco de sódio em formulações farmacêuticas e fluidos biológicos .....	32
<b>2 EXPERIMENTAL</b> .....	<b>34</b>
2.1 Reagentes e soluções .....	34
2.2 Equipamentos .....	35
2.2.1 Módulo de análise .....	35
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>37</b>
3.1 Estudo espectrofotométrico para a reação diclofenaco com permanganato de potássio em meio ácido .....	37
3.2 Otimização do sistema de análise por injeção em fluxo que emprega conceitos de multicomutação para determinação do diclofenaco em formulação injetável .....	38
3.2.1 Estudo da vazão .....	38

<b>3.2.2 Estudo do número de ciclos .....</b>	<b>39</b>
<b>3.2.3 Estudo do comprimento da bobina helicoidal .....</b>	<b>40</b>
<b>3.2.4 Estudo da concentração do reagente .....</b>	<b>41</b>
<b>3.2.5 Estudo do tempo de inserção do reagente .....</b>	<b>43</b>
<b>3.2.6 Estudo do tempo de inserção da amostra .....</b>	<b>44</b>
<b>3.3 Aplicação do sistema otimizado .....</b>	<b>46</b>
<b>3.3.1 Curva de calibração .....</b>	<b>46</b>
<b>3.3.2 Estudo da repetibilidade .....</b>	<b>47</b>
<b>3.3.3 Comparação do método proposto com a metodologia da Farmacopeia Brasileira e com o método automático que emprega conceito SIA e a mesma reação .....</b>	<b>48</b>
<b>4. CONCLUSÃO .....</b>	<b>50</b>
<b>5. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>51</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 - Caracterização da problemática

A inflamação é um processo biológico no qual o organismo libera substâncias químicas como resposta a uma lesão celular. Uma lesão pode ser considerada física (quando decorrente de um trauma ou uma queimadura), biológica (quando microrganismos invadem o organismo ou mesmo o próprio organismo reconhece suas próprias células como invasoras) ou química (quando estas são decorrentes de substâncias ácidas ou básicas). Para quaisquer umas das lesões, recorre-se ao uso de medicamentos que apresentam a função de diagnosticar, curar, tratar, aliviar e prevenir sintomas.

Um dos medicamentos mais citados no combate à dor e a inflamação é o diclofenaco de sódio ou potássio, devido à sua ação inibitória sobre a enzima ciclooxigenase, sendo esta responsável pela transformação do ácido araquidônico em PGG<sub>2</sub>. Esses medicamentos são classificados como antiinflamatórios não esteroides e são encontrados de diversas formas farmacêuticas que podem ser administrados por via oral (comprimidos e cápsulas), parenteral (injetáveis), oftálmica, retal (supositório) e dermatológica (gel).

Devido a sua rápida absorção no organismo quando comparados com a via oral e retal<sup>[1]</sup>, a administração de diclofenaco por via parenteral é muito utilizada atualmente. Como todo medicamento, o diclofenaco ao ser administrado no organismo apresenta uma série de efeitos colaterais, dentre os quais os mais relatados são: os efeitos gastrointestinais, dor de cabeça, tontura, edema e lesão que pode ser hepática ou renal, sendo em alguns casos, as úlceras gástricas ou intestinais, úlceras hemorrágicas, insuficiência cardíaca e problemas de visão<sup>[2]</sup>. Sendo evidentes os casos relatados na literatura por Golcman e colaboradores<sup>[3]</sup> e Giovannetti<sup>[4]</sup>, o que de alguma forma acaba exigindo um desenvolvimento de metodologia para sua determinação afim de certificar se a dosagem contida nos rótulos estão dentro do especificado pela legislação vigente<sup>[5]</sup>.

No mundo, o regulamento das metodologias empregadas para a determinação desse fármaco é realizado pelas Farmacopeias internacionais (no Brasil esta é dado pela Farmacopeia Brasileira<sup>[5]</sup>) que nos últimos anos tornaram-se rigorosas,

exigindo dos laboratórios de análise, o desenvolvimento de metodologias mais modernas e métodos que sejam rápidos, precisos e econômicos<sup>[6]</sup>. Como uma saída a essas exigências, os laboratórios de análises estão recorrendo ao emprego da automação em fluxo<sup>[7]</sup> que conta com as vantagens que estão além do exigido pelas Farmacopeias, dentre às quais mais citadas são: redução dos custos analíticos por via da diminuição do número de operadores envolvido e o consumo mínimo de reagentes e amostra<sup>[8]</sup>, o que acaba gerando menos impacto ambiental, no que tange ao descarte desse fármaco.

Entre os analisadores automáticos em fluxo que é adotado em escala industrial, destaca-se o Analisador por Injeção Sequencial (SIA)<sup>[7]</sup> devido às vantagens descritas acima, porém comparado outros métodos automáticos, este apresenta como principal desvantagem à baixa frequência analítica, devido à sua injeção ser dada de modo sequencial, o que acaba limitando as análises no sistema. Como forma de corrigir o problema detectado no sistema SIA sem alterar as vantagens que os sistemas automáticos em fluxo têm, o sistema de análise por injeção em fluxo, com o uso da multicomutação, mostra-se como uma alternativa para o problema proposto devido às seguintes vantagens, tais como: automação da manipulação de soluções com fluxo intermitente, descartando-se alguns tipos de contaminação; minimização do consumo de reagentes e amostras, uma vez que somente quantidades necessárias são deslocadas para o fluxo transportador; aumento da frequência de amostragem, o que permite um grande número de determinações em um determinado intervalo de tempo, além da simplicidade e baixo custo de instrumentação<sup>[9]</sup>, o que de alguma forma se encaixa nas exigências dada pelas Farmacopeias.

Analisando os efeitos farmacocinéticos quanto ao uso do diclofenaco de sódio no organismo em sua formulação injetável, as exigências feitas pelos organismos nacionais e internacionais para o desenvolvimento de metodologias para sua determinação e as vantagens que os analisadores automáticos em fluxo possuem, pretendeu-se com este trabalho automatizar um método para determinar o diclofenaco de sódio empregando o conceito de multicomutação, uma vez que já foram descritas as vantagens e a eficiência desse sistema.

## **1.2 OBJETIVOS**

### **1.2.1 - Objetivo geral**

Automatizar um método por análise por injeção em fluxo (FIA), envolvendo conceitos de multicomutação com detecção espectrofotométrica para a determinação de diclofenaco de sódio, utilizando-se o reagente permanganato de potássio em meio ácido.

### **1.2.2 - Objetivos específicos**

1. Dimensionar o sistema de análise em fluxo quanto aos parâmetros físicos e químico para a determinação do diclofenaco de sódio;
2. Realizar a determinação do diclofenaco de sódio em amostras de formulação farmacêutica injetável;
3. Comparar o método automatizado proposto com outros métodos automatizados com detecção espectrofotométrica que são descritos na Literatura que empregam a mesma reação, assim como a metodologia oficial proposta pela Farmacopeia Brasileira;

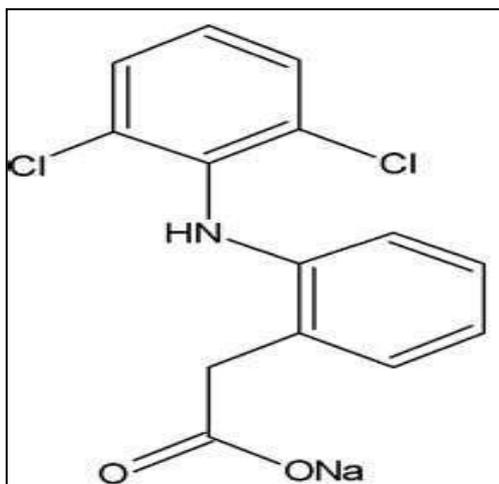
## 1.3 REVISÃO DE LITERATURA

### 1.3.1 - Descrição do analito

O diclofenaco de sódio é um AINE (antiinflamatórios não esteroides), da classe do ácido fenilacético, sendo largamente prescrito para o tratamento das doenças inflamatórias.<sup>[10]</sup> Este agente foi sintetizado por meio de modelagem molecular na busca de um AINE com elevada atividade e tolerabilidade.<sup>[11, 12]</sup> Possui fracas propriedades ácidas (pKa por volta de 4) e sua solubilidade depende do pH do meio, sendo ligeiramente solúvel em água, muito rapidamente solúvel em tampão fosfato, pH 6,8 e praticamente insolúvel em ácido clorídrico, pH 1,2.<sup>[11]</sup>

De acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS), o diclofenaco é um fármaco de classe II, ou seja, apresenta alta permeabilidade, mas com a solubilidade em meio aquoso insuficiente para dissolver completamente no trato gastrointestinal.<sup>[13]</sup>

A estrutura elementar do diclofenaco é composta por um grupo ácido fenilacético, um grupo amino secundário e um anel fenílico, onde as duas posições orto deste anel estão ocupadas por átomos de cloro como mostra a **Figura 1**. Esse composto apresenta a constante de acidez igual a 4,0 e o coeficiente de partição n octanol/água de 13,4.<sup>[14-16]</sup>



**FIGURA 1:** fórmula estrutural do diclofenaco de sódio.

Analisada ao raio-X, o diclofenaco apresenta um ângulo de torção ( $\alpha$ ) entre os dois anéis aromáticos de 69 graus e uma ligação de hidrogênio intramolecular ( $\delta$ ) entre o oxigênio da carboxila e o hidrogênio amino.<sup>[15,16]</sup>

Quando analisado no espectro da região ultravioleta, o diclofenaco de sódio solubilizado em metanol mostra características de absorção aromática, apresentando comprimentos de máxima absorção em 276 e 283 nm e absortividades molares em:  $\epsilon_{276} = 1,0.105$  e  $\epsilon_{283} = 1,05.105 \text{ L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ .<sup>[17]</sup>

### 1.3.2 - Propriedades farmacocinéticas

O diclofenaco de sódio pode ser administrado por via oral, tópica, intravenosa, intramuscular e retal.<sup>[18]</sup>

Os AINE são rapidamente absorvidos no trato intestinal, apresentando picos de concentração plasmática em 2 – 3 horas que pode ser alterado quando o uso do AINE está associado com a ingestão de alimentos. O efeito provocado quando se associa o AINE com a ingestão de alimentos está no efeito retardante de sua absorção, o que acaba afetando o pico de concentração da droga. Mas devido a sua rápida absorção por via oral, a sua meia-vida de eliminação é de 1 a 2 h, o que faz com que seu efeito terapêutico seja consideravelmente mais longo que a meia-vida plasmática. A explicação para esse efeito é devido ao acúmulo no líquido sinovial após a sua administração.<sup>[18]</sup>

A administração oral e parenteral do diclofenaco é diretamente proporcional à dose, quando administrado entre 25-150 mg. A administração de uma dose usual de 50 mg, 3 vezes ao dia, ou 75 mg duas vezes ao dia, produz o mesmo efeito quando comparado à administração de dose única.<sup>[18-20]</sup> Após a administração, o diclofenaco sofre metabolização hepática pelo citocromo P450 (CYP), produzindo como principal metabólito o 4-hidroxiclofenaco, além de outros produtos hidroxilados. Após hidroxilação, sofre conjugação com ácido glicurônico e com sulfato.<sup>[19, 21]</sup>

A biodisponibilidade do diclofenaco aumenta linearmente após administração de doses terapêuticas entre 25 e 150 mg, pelas vias oral, retal e muscular. Entretanto,

to, drogas utilizadas pelas vias oral e retal sofrem o efeito de primeira passagem pelo fígado, que reduz sua biodisponibilidade em 50%. Estudos avaliando a biodisponibilidade do diclofenaco administrado por via muscular em grupos que receberam doses de 50 e 75mg, sugerem que a biodisponibilidade deste fármaco esteja diretamente relacionada ao seu efeito analgésico e que exista um efeito teto acima, no qual o aumento da biodisponibilidade da droga não esteja associado com a melhora na qualidade da analgesia pós-operatória.<sup>[22]</sup>

Quando se administra 75 mg de diclofenaco, por via intramuscular, as concentrações plasmáticas máximas são atingidas entre 10 e 22 min. Foi observado que a área sob a curva de concentração plasmática (AUC), alcançada após a administração parenteral da droga, é de aproximadamente o dobro da área sob a curva obtida após administração da mesma dose por via oral. Atribui-se essa diferença ao metabolismo de primeira passagem que ocorre após a administração oral da droga.<sup>[19]</sup>

Sendo o diclofenaco um ácido fraco, buscou-se alternativas em suas formulações para se obter uma maior rapidez na sua absorção e, conseqüentemente, na sua atividade farmacológica. A suspensão do sal de potássio, por exemplo, apresenta alta taxa de absorção com correspondente aumento da concentração plasmática, antecipando o efeito analgésico, o que é muito desejável na pirexia, processos inflamatórios orais e dismenorreia.<sup>[23]</sup>

Na busca de redução das reações adversas, maximização do efeito local e minimização da toxicidade sistêmica, Pereira e colaboradores.<sup>[24]</sup> demonstraram resultados favoráveis aos AINE de uso tópico com alívio da dor e melhoria da função e rigidez articular. A quantidade de diclofenaco sódico absorvida através da pele é proporcional ao tempo de contato e à área da pele coberta com o mesmo e depende da dose tópica total e da hidratação da pele.<sup>[25]</sup>

Após absorção, o diclofenaco se liga às proteínas plasmáticas na proporção de 99,7% ficando confinado no compartimento central. Isso se reflete por seu baixo volume de distribuição ( $V_d = 0,1$  a  $0,2$  L/Kg).<sup>[19]</sup> Como o diclofenaco apresenta-se altamente ligado às proteínas plasmáticas, este poderá deslocar outros medicamen-

tos do sítio de ligação, como é o caso do uso concomitante com o metotrexato, com consequente aumento do nível sanguíneo do último.<sup>[20, 26]</sup>

Uma vez absorvido no organismo, O diclofenaco é eliminado na urina (65%) e através da bile (35%). Sendo que valores menores que 1% é excretado na urina de forma inalterada.<sup>[19]</sup> A eliminação é rápida, cerca de 90% da depuração acontecendo entre 3 e 4 h após a administração oral ou intravenosa do diclofenaco. Após a administração oral ou intravenosa, aproximadamente 61% da dose injetada foram excretados na urina e 30% nas fezes.<sup>[27]</sup>

### **1.3.3 - Determinações de diclofenaco de sódio em formulações farmacêuticas e fluidos biológicos por espectrofotometria UV visível**

A presente revisão de literatura compreende referências que cobrem o período de 2004 a 2013, usando nesse caso o banco de dados do Science direct.<sup>[28]</sup>

Na Literatura científica observa-se que há muitos trabalhos que visam à determinação do diclofenaco em formulações farmacêuticas e em fluidos biológicos utilizando os métodos espectrofotométricos devido a sua viabilidade em termos de simplicidade e baixo custo.<sup>[6]</sup>

Atualmente o método oficial adotado pelas Farmacopeias é a titulação potenciométrica.<sup>[29]</sup> Esse método de determinação para o diclofenaco utiliza uma solução padronizada de ácido perclórico. Por se tratar de um método titulométrico, este apresenta a desvantagem quanto ao consumo elevado desse reagente, o baixo número de determinações que podem ser realizadas e o uso de equipamentos especializados.

Buscando uma forma mais versátil, simples e de baixo custo para determinar o diclofenaco em formulações farmacêutica, Ghasemi e colaboradores<sup>[30]</sup> propuseram um método para determinar o álcool benzílico e o diclofenaco em formulações injetáveis através da aplicação de um método de calibração multivariada. Por um método de calibração multivariada como mínimos quadrados parciais, foi possível obter um modelo ajustado para os valores de concentração das misturas. Neste es-

tudo, o modelo de concentração é baseado no espectro de absorção na faixa de 230 e 320 nm para 25 diferentes misturas de álcool benzílico e diclofenaco. A faixa de calibração foi de 1- 50 mg.mL<sup>-1</sup> de diclofenaco.

Dois métodos foram apresentados para a determinação quantitativa e simultânea de álcool benzílico e diclofenaco em várias formas farmacêuticas. O primeiro método consiste na utilização de um derivado do espectro do divisor de razão dupla de densidade óptica. A faixa de determinação foi linear é 12-45 mg.mL<sup>-1</sup>. No segundo método, os sinais analíticos são medidos em comprimentos de onda que correspondem a máximos ou mínimos para ambos os fármacos nos espectros da primeira derivada para razão de densidade óptica da amostra e da solução padrão de uma das drogas. Neste caso, os intervalos lineares para a determinação foi de 14-45 mg.mL<sup>-1</sup>.<sup>[31]</sup>

Choudhary e colaboradores<sup>[32]</sup> propuseram um método para a estimativa simultânea de diclofenaco de sódio e rabeprazole em forma de dosagem combinada. O metanol foi utilizado como um solvente comum para ambos os fármacos. A linearidade foi observada em ambos os comprimentos de onda na gama de concentração de 10-50 mg.mL<sup>-1</sup> para cada droga.

Kormosh<sup>[33]</sup> desenvolveu um método para determinar diclofenaco de sódio em preparações farmacêuticas. Este método baseia-se na reação de diclofenaco de sódio com reagente BIK em pH 8,5 e 10,5 com extração dos íons do complexo colorido. Este complexo de íons associados na proporção (1:1) foi detectado e extraído com tolueno apresentando uma absorção máxima de 566,2 nm contra o branco do reagente. A curva de calibração foi linear 0,9-11 mg.mL<sup>-1</sup> do diclofenaco e do limite de detecção foi de 0,86 mg.mL<sup>-1</sup>.

Ghiasvand e colaboradores<sup>[34]</sup> Desenvolveram um método de extração-líquido/líquido para determinação de diclofenaco em urina. A concentração do composto de cor foi extraída e sua absorbância determinada em 376 nm. A absorbância máxima foi atingida em 1,5 e 7,0 mol.L<sup>-1</sup> em soluções aquosas de metanol e ácido nítrico. A absorção das soluções de diclofenaco em água e metanol obedeceu a lei de Beer na faixa de 1,0-30 e 0,5-40 mg.mL<sup>-1</sup> respectivamente, com absortividades

molares de  $7,4 \times 10^3$  e  $1,3 \times 10^4$  L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, respectivamente e LOD (limite de detecção) em 0,03 ng. mL<sup>-1</sup>.

Mitic e colaboradores<sup>[35]</sup> desenvolveram um método baseado na cinética de uma reação para a determinação de microquantidades de diclofenaco de sódio em formulação farmacêutica e em soro de controle humano. A reação foi monitorado espectrofotometricamente a partir da taxa de aparecimento do complexo diclofenaco-cobalto em 376 nm. As condições otimizadas originou um LOD teórico de 1,29 mg.mL<sup>-1</sup>.

Ciapina e colaboradores<sup>[36]</sup> propuseram um método para a determinação de diclofenaco de sódio (ou potássio) na forma pura e em preparações farmacêuticas. O método é baseado na reação de diclofenaco com tetracloro-p-benzoquinona (p-cloranil) em metanol. Esta reação foi acelerada pela irradiação da mistura reagente com energia microondas (1100W) por 27 segundos, produzindo um complexo de transferência de carga com um máximo de absorção em 535 nm. A lei de Beer foi obedecida num intervalo de concentração de  $1,25 \times 10^{-4}$  a  $2,00 \times 10^{-3}$  mol.L<sup>-1</sup> com um coeficiente de correlação de 0,9993, limite de detecção (LOD) de  $1,35 \times 10^{-5}$  mol.L<sup>-1</sup> e limite de quantificação (LOQ) de  $4,49 \times 10^{-5}$  mol.L<sup>-1</sup>.

Um método espectrofotométrico foi proposto por Marin e colaboradores<sup>[37]</sup> para a determinação de diclofenaco de sódio em formulações farmacêuticas baseado na sua reação com o ácido nítrico concentrado (63% w / v). O produto da reação é um composto amarelado, com uma absorbância que foi monitorada a 380 nm. A curva de calibração é linear no intervalo de 1,0-30 mg.L<sup>-1</sup>, enquanto que o LD é de 0,46 mg.L<sup>-1</sup>.

De Souza e Tubino<sup>[38]</sup> propuseram um método modificado para a determinação espectrofotométrica do diclofenaco em preparações farmacêuticas utilizando como reagente uma solução aquosa de cobre (II). Um complexo de cor verde é formado entre o cobre (II) e o diclofenaco com um máximo de absorção em 680 nm. As condições ótimas foram encontrados em pH 5,3, 50,0 mg.mL<sup>-1</sup> (acetato de cobre (II) em 0,01 mol.L<sup>-1</sup> de uma solução de ácido acético) e de três extrações com clorofórmio, usando um volume total de 5,0 mL. O RSD do método proposto foi de cerca de 2,3% para o diclofenaco de sódio. O coeficiente de correlação linear foi 0,9984 para

o sal de sódio, a faixa linear foi de 1,0 - 25,0 mg.mL<sup>-1</sup> em solução de trabalho. O LOD é de 0,2 mg.mL<sup>-1</sup> e o LOQ é de 0,7 mg.mL<sup>-1</sup>.

Barry e colaboradores<sup>[39]</sup> descreveram um método para determinar diclofenaco de sódio em formulação farmacêutica baseado na reação do diclofenaco com ferro(III) para produzir ferro (II) que reage com hexacianoferrato de potássio (III) para gerar um composto de coloração azul que foi medido em 710 nm. O intervalo de concentração foi linear de 1 e 6 mg.L<sup>-1</sup>.

Gushan e Pandey<sup>[40]</sup> desenvolveram uma metodologia para determinar diclofenaco em formulações farmacêuticas a partir da estimativa da curva de calibração desse fármaco. O método é baseado na determinação de diclofenaco em metanol (20% v/v metanol) apresentando a linearidade no intervalo de concentração de 4 a 27 mg.L<sup>-1</sup>.

#### **1.4. – Métodos automáticos**

Nos últimos anos, uma grande parte da Química Analítica tem-se voltado para o desenvolvimento de sistemas automáticos, bem como de metodologias e adaptações para esse fim.<sup>[41]</sup>

Os argumentos para a utilização da automação são bastante variados, sendo comumente empregada para garantir maior segurança do analista no manuseio de substâncias que potencialmente possam oferecer riscos à saúde, reduzir os custos, devido ao baixo consumo de reagentes e amostras, executar procedimentos em um menor intervalo de tempo, diminuir o esforço humano, melhorar a precisão das análises, etc.<sup>[41]</sup>

Os analisadores automáticos podem ser classificados em três grupos: analisadores automáticos discretos ou em batelada, automáticos robotizados e automáticos em fluxo.

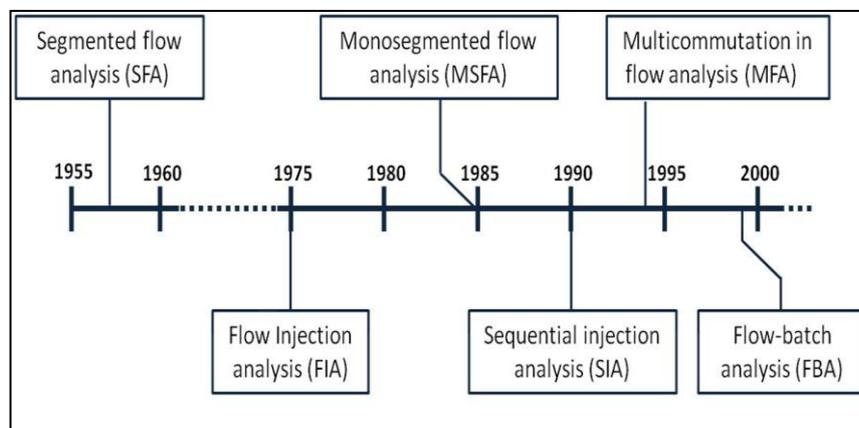
Os analisadores automáticos discretos, ou em batelada, são versões mecanizadas de métodos clássicos manuais. Geralmente, caracterizam-se por usarem um

recipiente individual para cada amostra e por transportar a mistura reacional para o detector através de um sistema mecânico, comumente, em forma de bandeja. Normalmente, as medidas são realizadas após o estabelecimento do equilíbrio químico e físico da reação em estudo, objetivando alcançar a máxima sensibilidade analítica.<sup>[42]</sup>

Os analisadores em fluxo apresentam as características de processamento da amostra e reagente em fluxo contínuo, seccionado ou não por bolhas de ar. De uma forma geral, devido à quantidade crescente de analisadores em fluxo desenvolvidos, a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry)<sup>[43-44]</sup> tem recomendado uma classificação de acordo com o processamento da amostra e/ou reagente(s) bem como da característica básica de seu fluxo.

Apesar da importância dos métodos discretos, e, sobretudo dos métodos robotizados, na implementação e automatização de procedimentos laboratoriais, os métodos de fluxo registram um acentuado crescimento, tanto em termos de divulgação, como em áreas de aplicação e até em receptividade por parte da comunidade científica.<sup>[41-60]</sup>

Desde o desenvolvimento do primeiro analisador automático em fluxo<sup>[61]</sup>, em 1957 até a atualidade, inúmeros analisadores têm sido propostos, como pode ser visto na Figura 2. As diferentes combinações de características, como o tipo de confluência, bombeamento/aspiração de amostras e reagentes e sua segmentação definem as peculiaridades de cada sistema.

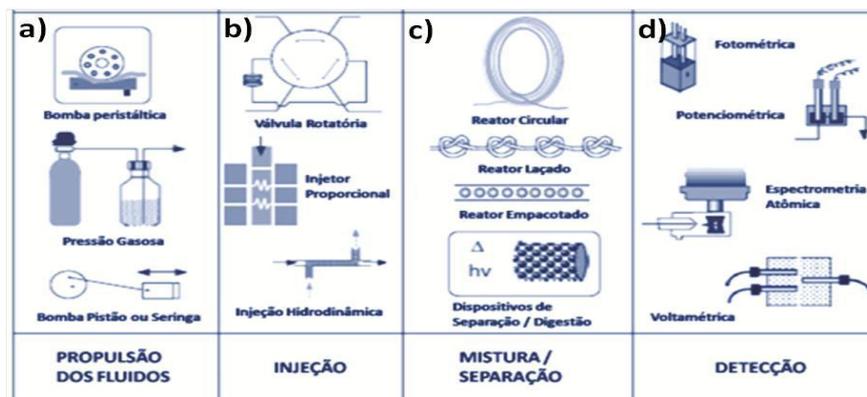


**FIGURA 2:** Linha do tempo com os principais analisadores automáticos em fluxo.

A **Figura 3** mostra as características que são comuns a todos os analisadores automáticos. Ou seja, os analisadores automáticos possuem em comum um sistema de propulsão, injeção, mistura ou reação e detecção.

No sistema de propulsão, o fluido geralmente é transportado por uma bomba peristáltica (Figura 2. a), mas na ausência deste, uma bomba de aquário, bomba pistão, a gravidade ou até mesmo uma seringa hipodérmica pode ser utilizada. A inserção da amostra e do reagente é realizada normalmente por injetores proporcionais, válvulas rotatórias e válvulas solenoides (Figura 2. b).

Em sistemas FIA, a mistura reação geralmente é feita em bobinas helicoidais, mas estas podem ser modificadas para se adequar ao sistema, como mostra a Figura 2. c. O(s) analito(s), em sistema FIA, pode ser determinado em vários detectores. (Figura 2. d).



**FIGURA 3:** Diagrama esquemático de um sistema de análise em fluxo simples. (a) exemplos de sistemas para propulsão dos fluidos, (b) exemplos de sistemas de injeção, (c) exemplos de sistemas de mistura e (d) exemplos de detectores.

A seguir será discorrido sobre os analisadores automáticos que são mostrados na **Figura 2**, dando maior ênfase ao analisador em fluxo com multicomutação (MFA), mostrando assim a importância desse analisador para o melhor entendimento do trabalho proposto.

### 1.4.1 - Análise em fluxo segmentado (SFA)

O desenvolvimento do primeiro sistema de análise em fluxo ocorreu em 1957 por Leonard Skeggs, <sup>[61]</sup> um pesquisador de laboratório clínico. Esse sistema, que foi inicialmente denominado de análise em fluxo contínuo (do inglês: *Continuous Flow Analysis* – CFA) e que logo em seguida teve a sua terminologia alterada para análise em fluxo segmentado (do inglês: *Segmented Flow Analysis* - SFA), tem como princípio a segmentação da amostra por bolhas de ar.

Nesse sistema, a amostra é aspirada e segmentada por bolhas de ar seguida da adição do reagente. Esse conceito alcançou uma ampla aceitação, principalmente, no campo das análises clínicas, decorrente do desenvolvimento e comercialização dos *AutoAnalyzer Technicon*. Seu uso em laboratórios clínicos tem diminuído devido a um movimento em direção a sistemas mais altamente automatizados, que requerem um menor envolvimento do operador e menor consumo de reagente e amostra, fator importante para reações enzimáticas. O SFA é ainda dominante em laboratórios de grande porte, especialmente para determinações utilizando procedimentos extensos ou complexos.<sup>[62]</sup>

### 1.4.2 - Análise por injeção em fluxo (FIA)

Em 1975, Ruzicka e Hansen<sup>[63]</sup> introduziram o conceito sistema de análise em fluxo, que ficou conhecido, internacionalmente, pelo acrônimo FIA (do inglês: *Flow Injection Analysis*). Esse processo de análise química, que foi inicialmente desenvolvido no Brasil durante a assessoria do até então perito da Agência Internacional de Energia Atômica Dr. Jaromir Ruzicka à instalação do laboratório de Química Analítica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo (CENA/USP) tornou-se uma notória ferramenta para automação de procedimentos analíticos em todo o mundo.<sup>[64]</sup>

Diferente do sistema SFA, no sistema por injeção em fluxo o volume da amostra é inserido em um fluido carregador não segmentado, onde nesse trajeto, a reação ocorre até alcançar o detector.

O sistema FIA apresenta a vantagem na realização de estudos cinéticos, consumo mínimo da amostra, instrumentação simples e elevada velocidade analítica.

Como não há segmentação por bolhas de ar nesse sistema, a amostra sofre dispersão durante o transporte para o detector, o que acaba alterando o equilíbrio físico e químico. Como consequência dessa alteração, há uma diminuição na sensibilidade do método, quando comparado com outros analisadores automáticos. Outra desvantagem observada em sistema FIA, quando comparado a outros analisadores, consiste na baixa flexibilidade, ou seja, caso seja necessário alterar uma configuração no sistema, novos parâmetros devem ser realizados, tais como, vazão, nível de dispersão, intercontaminação entre outros.

O sistema FIA gerou grande impacto,<sup>[41]</sup> na comunidade científica desde o seu primeiro trabalho até os dias atuais, o que pode ser visto em livros e artigos.

#### **1.4.3 - Análise em fluxo monossegmentado (MSFA)**

O primeiro sistema brasileiro foi desenvolvido por Célio Pasquini no seu trabalho de tese no Instituto de Química da Universidade de Campinas<sup>[65]</sup>, sendo divulgado à comunidade científica internacional em 1985.<sup>[54]</sup>

O sistema em fluxo monossegmentado foi proposto como um híbrido do SFA com o FIA, agregando aspectos importantes dos dois sistemas.<sup>[60]</sup> Nesse sistema, a amostra é inserida entre as bolhas de ar, o que acaba gerando vantagens tais como, a minimização da dispersão longitudinal, processamento simultâneo de amostra e consumo mínimo de amostras quando comparado com sistema FIA, além de evitar a intercontaminação das amostras, o que pode ser muito eficiente para reações de cinética lenta.

Diversos procedimentos analíticos têm sido desenvolvidos explorando as características do sistema MSFA como, por exemplo, titulação,<sup>[65]</sup> análise de gases<sup>[67,68]</sup> e extração.<sup>[69,70]</sup>

Uma discussão é levantada, acerca da confusão de nomenclatura, levantada por Célio Pasquini, no artigo "Por que ele é Chamado de Análise em Fluxo Monosegmentado".<sup>[71]</sup> Nesse trabalho, o autor lembra que o sistema MSFA foi originalmente nomeado de MCFA (do inglês: *monosegmented continuous flow analysis*) e esta nomenclatura permaneceu em uso até que as recomendações da IUPAC sobre a classificação e definição de métodos analíticos em fluxo foram publicadas.<sup>[58,59]</sup> Desde então, vários pesquisadores têm reconhecido que a palavra "contínuo" não contribui significativamente para a descrição do processo que ocorre nesse sistema de fluxo, e acolheram o nome recomendado pela IUPAC, *monosegmented flow analysis*, porém outros permanecem no equívoco chamando tal sistema ainda pelo termo MCFA ou dando outras nomenclaturas, como por exemplo SFIA.<sup>[72]</sup>

#### 1.4.4 - Análise por Injeção Sequencial

O conceito SIA foi proposto por Ruzicka e Marshall em 1990 e significa análise por injeção sequencial. Este Sistema de análise é um sucessor do Sistema FIA e tal como este, o SIA é uma técnica de fluxo contínuo não segmentado com base nos mesmos princípios de dispersão controlada do conceito FIA, mas cujo modo de funcionamento baseia-se no conceito de fluxo programável. Um sistema básico SIA é constituído por um dispositivo bidirecional de propulsão, uma bobina de retenção, uma válvula de seleção de multiposições, um detector, tubos adequados para unificar todos os componentes diferentes do sistema e um microcomputador.<sup>[73]</sup>

No sistema SIA, volumes de amostra e reagente são aspirados de forma sequenciada através de uma bomba peristáltica ou bomba pistão. A válvula seletora apresenta vários canais, em média de seis a dez e uma única saída, no qual volumes pré-determinados de amostra e reagentes são deslocados para o interior do coletor, onde pode ocorrer a homogeneização, a mistura ou a separação das solu-

ções. Após essa etapa, a direção do fluxo é invertida e a mistura é direcionada para o detector.

A grande desvantagem do sistema SIA, quando comparado com outros analisadores automáticos, está na baixa frequência analítica, uma vez que as soluções são aspiradas de forma sequencial.

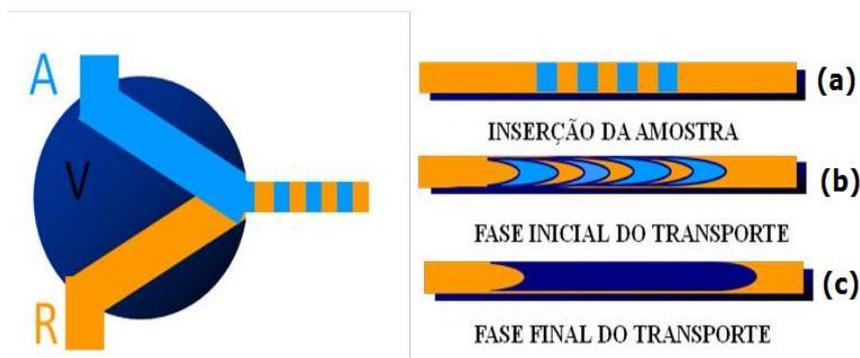
#### 1.4.5 - Análise em Fluxo com Multicomutação (MFA)

Em meados da década de 90, outro pesquisador brasileiro, propôs uma metodologia analítica automática baseada em sistemas de fluxo multicomutado. Esse sistema foi batizado de análise em fluxo multicomutado (MFA).<sup>[75]</sup>

A principal característica do sistema desenvolvido por Boaventura Reis é a inserção de pequenas alíquotas da amostra e do reagente de forma consecutiva e alternada, originando uma amostragem binária. Essa formação de zonas reacionais favorece o processo de homogeneização entre a amostra e o reagente, não influenciando na velocidade analítica.<sup>[43]</sup>

O módulo de análise é constituído por um conjunto de válvulas solenoides que são acionadas por um acionador válvulas ou interface eletrônica que são controladas pelo microcomputador. Com um recurso como este é possível controlar a inserção precisa dos volumes de reagentes e amostra apenas pelo tempo de acionamento e um canal de bombeamento. Outra questão observada está no controle do software de acordo com o procedimento analítico no qual é possível fazer alterações somente no mesmo sem alterar a estrutura física do sistema.<sup>[76]</sup>

A **Figura 4** mostra uma válvula solenoide de três vias e o modelo de como ocorre o processo de amostragem.



**FIGURA 4:** Esquema de uma válvula solenoide e o processo de amostragem. A – amostra; V- válvula; R – reagente. (a) – inserção da amostra; (b) - fase inicial do transporte; (c) – fase final do transporte.

De acordo com a Figura 3 (a), o acionador de válvula ou a interface eletrônica, controladas pelo microcomputador permite a inserção da amostra e reagente de forma comutada, ou seja de forma alternada. Seguida da inserção, na Figura 3 (b), há o início do processo de transporte pelo carregador iniciando o processo de homogeneização. Na Figura 3 (c), a amostra está totalmente homogeneizada no reagente e sendo esta transportada pelo carregador até o detector, o que acaba caracterizando a fase final do transporte.

Além da vantagem de se controlar com precisão a inserção de alíquotas de amostra e reagente, o sistema MFA apresenta outras vantagens, tais como: automação da manipulação de soluções em fluxo intermitente, consumo mínimo das soluções, o que acaba gerando menos efluentes, tamanho compacto e o baixo custo de instrumentalização, o que acaba por ajudar o operacionalizador na instrumentalização em campo. Aliado a todas essas vantagens, o sistema MFA é potencialmente aplicado à Química verde.<sup>[77]</sup>

#### 1.4.6 - Analisador em Fluxo Batelada (FBA)

Esse sistema foi proposto por pesquisadores brasileiros da Universidade Federal da Paraíba, sendo seu primeiro trabalho divulgado por Honorato e colaborado-

res<sup>[46]</sup> em 1999. O sistema em fluxo batelada apresenta como novidade a câmara de mistura, sendo esta feita de Teflon ou acrílico com um volume interno de 0,5 a 2,0 mL. A propulsão dos fluidos geralmente é feita através da bomba peristáltica, enquanto que a adição é realizada através das válvulas solenoides que são acionadas pela interface e controladas pelo microcomputador. Recentemente em 2012 foi lançado um artigo de revisão mostrando as determinações que foram realizadas nesse analisador.<sup>[45]</sup>

#### **1.4.7 – Uso dos Métodos automáticos com detecção espectrofotométrica para determinação de diclofenaco em formulações farmacêuticas e fluidos biológicos**

Um artigo de revisão publicado em 2007 por Tzanavaras e colaboradores<sup>[7]</sup> descreve a importância que os cientistas estão dando ao uso dos sistemas FIA em análises farmacêuticas. O autor divide as análises FIA em três seções: A primeira seção aborda sistemas FIA homogêneos e inclui métodos baseados em: medidas de UV diretos, interações dos metais com as drogas e as várias reações com formação de compostos coloridos. A segunda seção discorre sobre os sistemas FIA heterogêneos e especificamente a utilização de reatores em fase sólida e os sensores ópticos; a terceira parte da revisão é dedicada aos sistemas FIA com pré-tratamento (hidrólise, digestão e fotólise) das amostras.

Em 2006, Pimenta e colaboradores<sup>[6]</sup> publicaram um artigo de revisão mostrando a eficiência e a crescente demanda no uso de sistemas SIA para determinação de fármacos.

Devido às várias formas que podem ser determinados os fármacos em sistemas FIA e SIA, a presente revisão compreende a determinação de diclofenaco em formulação farmacêutica e fluido corporal no período de 2001 a 2013.<sup>[28]</sup>

Em 2001, Garcia e colaboradores<sup>[78]</sup> descreveram um método para determinar diclofenaco e ácido mefenâmico em formulações farmacêuticas por FIA. O método baseia-se na reação do diclofenaco com uma solução de ferricianeto de potássio. A

medida de absorvância do diclofenaco foi mensurado em 455 nm e a curva de correção foi linear no intervalo de 0,2 a 20 mg.L<sup>-1</sup>.

Sutan<sup>[79]</sup> desenvolveu um método para determinar diclofenaco de sódio em formulações farmacêuticas usando o conceito SIA. Este método é baseado na oxidação do diclofenaco com permanganato em meio a ácido sulfúrico e foi monitorado em 450 nm. A curva de calibração foi linear no intervalo de 30 a 135 mg.L<sup>-1</sup> com limite de detecção 0,24 mg.L<sup>-1</sup> e limite de detecção em 0,7 mg.L<sup>-1</sup>.

Idris Abubakr<sup>[80]</sup> descreve um planejamento fatorial para determinar diclofenaco em formulações farmacêutica, usando o conceito SIA. Esta reação baseia-se na oxidação do diclofenaco com permanganato em meio a ácido sulfúrico e foi monitorado em 450 nm. A diferença observada desse método com o descrito por Sutan<sup>[78]</sup> está na realização de um planejamento fatorial de 2<sup>6</sup> dos níveis de condição experimental para determinar a quantidade do volume da amostra, do reagente e a concentração do reagente em fluxo.

Rodrigues e colaboradores<sup>[81]</sup> propôs um método de análise por injeção sequencial (SIA) para determinar a concentração de diclofenaco em amostras de urina e formulações farmacêuticas. O método é baseado na reação do diclofenaco com permanganato de potássio em meio alcalino que foi monitorado em 450 nm. A influência sobre o sinal analítico do comprimento do reator, o volume de permanganato, o volume da amostra e a taxa de fluxo foi investigada usando um parâmetro de concepção Taguchi. Sob condições ideais, o intervalo linear da curva de calibração variou 10,0-100,0 mg.L<sup>-1</sup>, com um limite de detecção de 5,0 mg. L<sup>-1</sup>. Uma taxa de amostragem de 15 determinações por h<sup>-1</sup> foi alcançada, o desvio padrão relativo da repetibilidade analítica foi menor que 3,0% em todos os casos.

## 2. EXPERIMENTAL

### 2.1 - Reagentes e Soluções

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico de pureza e todas as soluções foram preparadas com água deionizada. A vidraria laboratorial utilizada foi previamente mantida e lavada sob uma solução sulfonítrica. (Proporção de 1 parte de ácido sulfúrico para 3 partes de ácido nítrico).

Uma solução estoque de  $1000 \text{ mg.L}^{-1}$  de 2 - [(2,6-diclorofenil) amino] benzenoacético monossódico (Synt) foi preparado pela dissolução desse sal em de água. Soluções de trabalho com concentrações de 20, 40, 60 e  $80 \text{ mg.L}^{-1}$  de 2 - [(2,6-diclorofenil) amino] benzenoacético monossódico foram preparadas a partir da diluição da solução estoque. Essas soluções foram utilizadas para a otimização e construção da curva analítica do sistema de análise em fluxo por válvulas solenoides.

Solução de permanganato de potássio(Impex) de  $4 \times 10^{-4} \text{ Mol.L}^{-1}$  foi preparado pela dissolução de 0,0063 g desse sal em 100 mL de uma solução de  $0,1 \text{ Mol.L}^{-1}$  de ácido sulfúrico. Após o preparo, essa solução foi estocada em um frasco âmbar para evitar a decomposição do permanganato.

Três amostras de ampolas de solução injetável com concentração descrita pelo fabricante de 75 mg de diclofenaco de sódio em 3 mL foram utilizados. A partir dessas ampolas foi retirado alíquotas para preparar uma solução na concentração de  $25 \text{ mg.L}^{-1}$ . Essas soluções foram analisadas de acordo com o descrito pela Farmacopeia Brasileira<sup>[5]</sup> e pelo método proposto.

## 2.2 – Equipamentos

Para o sistema proposto, foi utilizado uma bomba peristáltica Ismatec IPC-8, com tubos de propulsão de Tygon para o transporte das soluções, três válvulas solenoides de três vias (NResearch, West Caldwell, 161T031), tubos de polietileno (0,8 mm d.i), confluência de acrílico de quatro vias, para entrada e saída de amostra, reagente e solução transportadora.

Para aquisição e controle de dados, um microcomputador Pentium II foi acoplado às válvula solenoides via entrada LPT 1 e ao espectrofotômetro (Femto, modelo 700 plus) via entrada digital RS 232 C. O programa para controle do módulo de análise e aquisição de dados foi desenvolvido em linguagem Quick Basic 4.5.

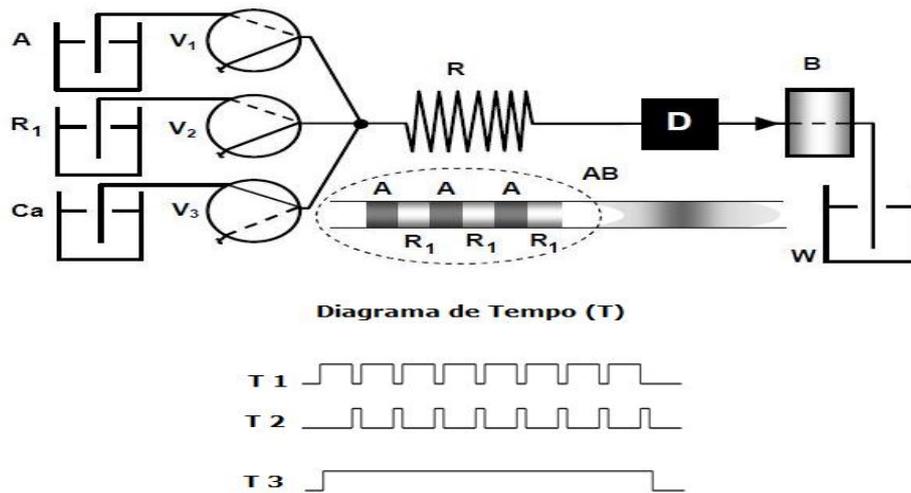
Para o estudo analítico da banda de absorção para a reação do diclofenaco de sódio com permanganato de potássio em meio ácido e para a determinação do método de referência descrito pela Farmacopeia Brasileira [5], utilizou-se um espectrofotômetro com duplo cromador. (SHIMADZU UV-2550).

Para a validação do método, o espectrofotômetro (Femto, modelo 700 plus) foi utilizado.

### 2.2.1 – Módulo de análise

O módulo de análise foi baseado num Sistema de Análise em Fluxo por Multi-comutação com o uso de três válvulas solenoides de três vias. Os comutadores independentes foram submetidos pela linguagem escrita Quick Basic 4.5, controlando os fluxos de amostra e reagentes permitindo, assim, comutar (redirecionar) os fluxos e, portanto flexibilizar o sistema para formas totalmente automatizadas.

O módulo de análise proposto é caracterizado como módulo de aspiração, ou seja, nesse módulo de análise, o sistema de propulsão (bomba peristáltica) está posicionado no final do módulo de análise, como mostra a **Figura 5**.



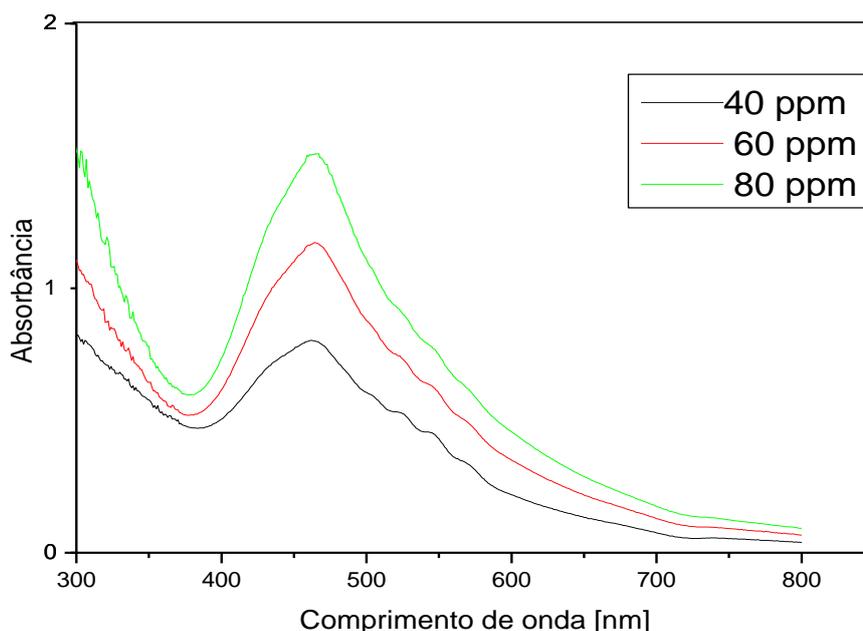
**FIGURA 5:** Módulo de análise do sistema em fluxo por multicomutação com válvulas solenoides por aspiração para determinar diclofenaco em formulação injetável. V1, V2, V3 – Válvulas solenoides; A – amostra (diclofenaco); R1 – reagente (permanganato de potássio  $4 \times 10^{-4}$  Mol. L<sup>-1</sup>); Ca – carregador (água deionizada); B – bomba peristáltica; R- reator; D – (detector): Espectrofotômetro; AB – amostra binária; T1 – tempo de acionamento da válvula V1; T2 – tempo de acionamento da válvula V2; T3 – tempo de acionamento da válvula V3; W– descarte.

Na forma como é apresentada a Figura 4, todas as válvulas estão desligadas e a solução transportadora (CA) é aspirada através da válvula V3(linha cheia) em direção ao detector, formando a linha de base. Na sequência, as válvulas V1, V2 e V3 são ligadas, sendo que as duas últimas são acionadas de forma alternadas, permanecendo V3 continuamente acionada, até o fim do número de ciclos de acionamento definidos (ver diagrama de tempo), quando, então, todas as válvulas serão desligadas. Essa sequência de eventos insere alternadamente (na Figura 4 corresponde a AB) no percurso analítico as quantidades definidas de soluções de amostra e reagente, as quais são direcionadas à zona de confluência e uma bobina helicoidal (reator).

## 2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 – Estudo espectrofotométrico para a reação Diclofenaco com Permanganato de potássio em meio ácido

Os artigos publicados na Literatura científica descrevem que a banda de absorção para a reação do diclofenaco de sódio com o permanganato de potássio é 450<sup>[78 – 81]</sup> ou 455 nm.<sup>[78]</sup> Para o melhor esclarecimento a respeito da melhor banda de absorção, foi realizado um estudo espectrofotométrico para a reação em questão, como mostra a **Figura 6**.



**FIGURA 6:** Espectro eletrônico para a reação diclofenaco com permanganato de potássio em meio ácido ( $\lambda$  máx. = 465 nm).

De acordo com a **Figura 5**, percebeu-se que a reação em questão apresentou uma coloração marrom com boa absorvidade molar e resolução analítica, na faixa de 380 a 600 nm, com comprimento de onda máximo em 465 nm.

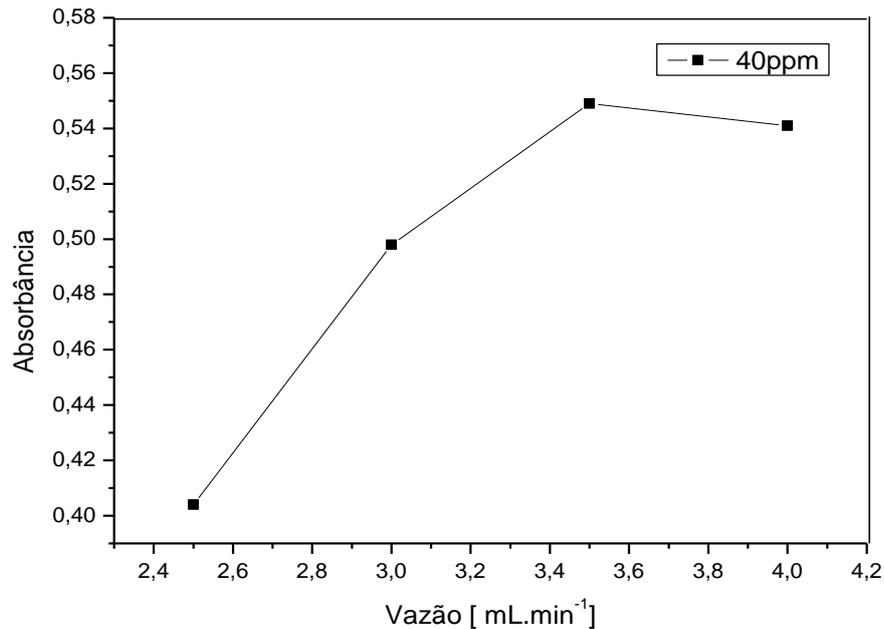
### 3.2 – Otimização do sistema de análise por injeção em fluxo que emprega conceito de multicomutação para a determinação do diclofenaco em formulação injetável

No sistema proposto foram avaliados e otimizados os parâmetros necessários para determinar o diclofenaco de sódio em formulação injetável, empregando-se o método univariado para verificar quais foram os melhores sinais analíticos. Os parâmetros avaliados foram: vazão, o número de ciclos, bobina da reação (reator), estudo da concentração do reagente, tempo de inserção do reagente e o tempo de inserção da amostra.

#### 3.2.1 - Estudo da vazão

Inicialmente foi realizado o estudo da vazão, que tem por objetivo avaliar o volume da solução que pode ser transportado para o sistema através da bomba peristáltica em um determinado tempo.

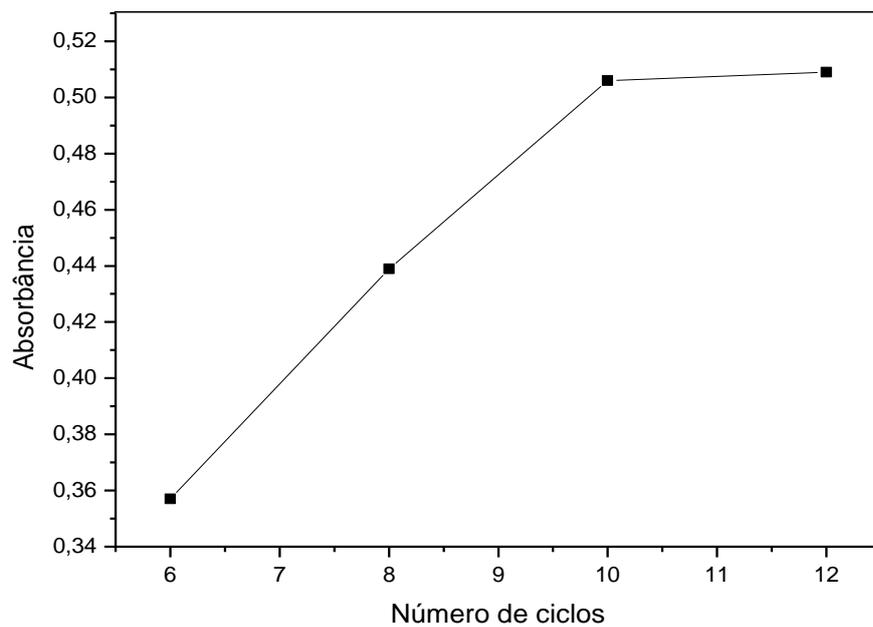
Utilizando o sistema mostrado na **Figura 5**, o estudo da vazão foi avaliado no intervalo de 2,5 a 4,0 mL.min<sup>-1</sup>, o que equivale a um volume respectivamente de 41,7 a 66,7 µL. Observou-se um aumento no sinal analítico com a vazão até 3,5 mL.min<sup>-1</sup>, em seguida um decréscimo do mesmo à vazão de 4,0 mL.min<sup>-1</sup>. Verificou-se que a vazão superior a 3,5 mL.min<sup>-1</sup>, ocorria um aumento na pressão hidrodinâmica, o que acarretava na diminuição do sinal analítico e uma instabilidade na linha de base, assim como uma maior dispersão à vazão inferior a este. A vazão definida foi a de 3,5 mL.min<sup>-1</sup>, devido ao maior sinal analítico, a menor dispersão e a estabilidade na linha de base, como mostra a **Figura 7**.



**FIGURA 7:** Estudo da vazão. Solução de referência de diclofenaco de sódio 40 mg.mL<sup>-1</sup>; Tempo de inserção da amostra 0,25 s; Tempo de inserção do reagente de 0,2 s; Bobina de 40 cm; Ciclo de amostragem 8.

### 3.2.2 – Estudo do número de ciclos

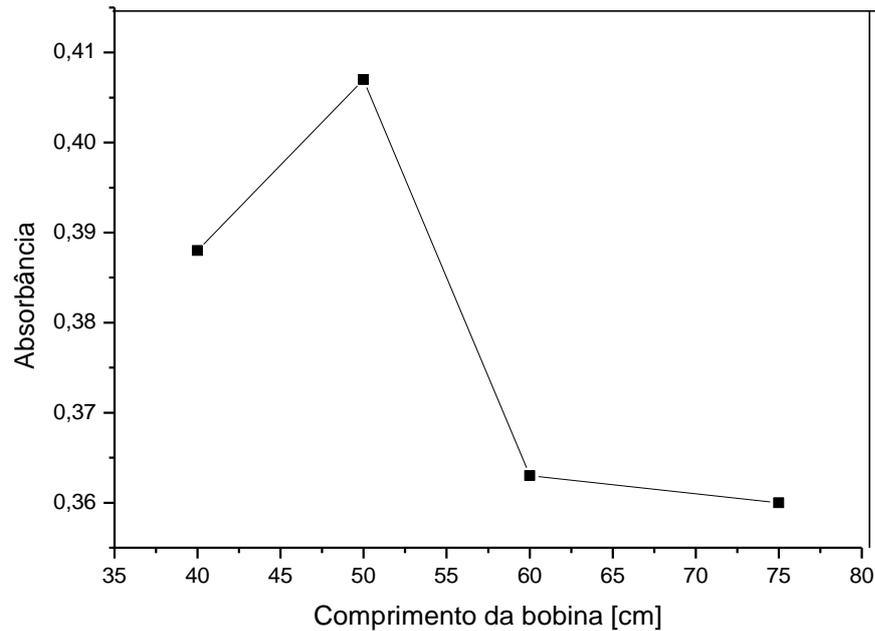
O número de ciclos corresponde à inserção alternada (comutada) de alíquotas de amostra e reagente na zona de amostragem. Esse estudo foi avaliado em um intervalo de 6 a 12 ciclos, no qual se verificou um aumento no sinal analítico com até 10 ciclos, ocorrendo em seguida um sinal constante para ciclo superior. Observou-se que para 10 e 12 ciclos, houve uma diminuição considerável na reprodutibilidade dos sinais, o que pode ser explicado pela leitura no detector antes de se completar o número total de ciclos. Para dar continuidade ao estudo do dimensionamento do sistema em fluxo, optou-se por trabalhar com 8 ciclos, devido a este ciclo apresentar uma boa estabilidade e reprodutibilidade nos sinais e na linha de base, como mostra a **Figura 8**.



**FIGURA 8:** Estudo do número de ciclos. Solução de referência de diclofenaco de sódio  $40 \text{ mg.mL}^{-1}$ ; Vazão de  $3,5 \text{ mL.min}^{-1}$ ; Tempo de inserção da amostra  $0,25 \text{ s}$ ; Tempo de inserção do reagente de  $0,2 \text{ s}$ ; Bobina de  $40 \text{ cm}$ ;

### 3.2.3 – Estudo do comprimento da bobina helicoidal

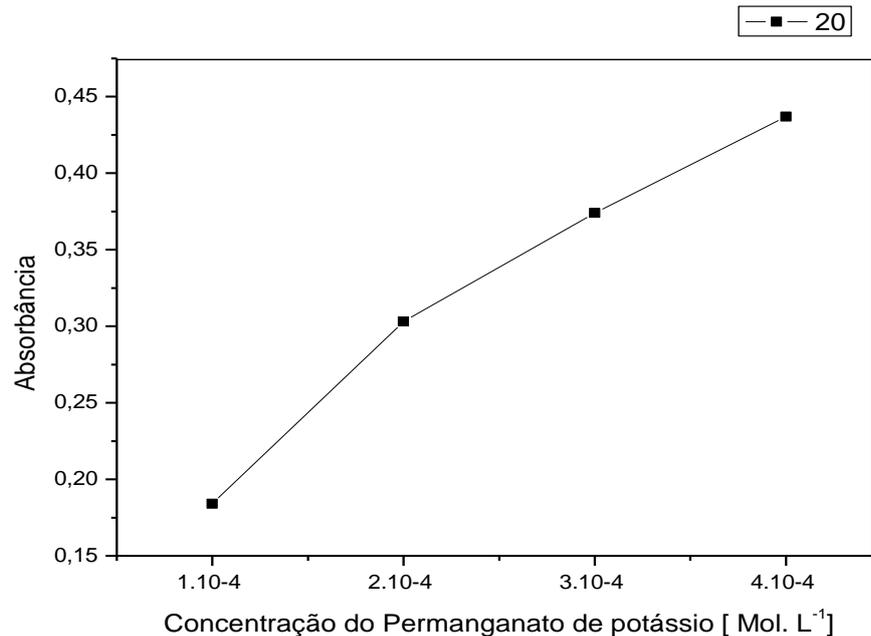
Avaliou-se o estudo do comprimento da bobina para tamanhos de  $40$  a  $75 \text{ cm}$ , uma vez que a cinética para a reação do diclofenaco com permanganato de potássio em meio ácido é rápida. Nesse estudo, verificou-se que houve um aumento no sinal analítico para a bobina de  $50 \text{ cm}$ ; para bobinas superiores a esse valor, observou-se uma diminuição considerável nos sinais e na estabilidade da linha de base, o que pode ser explicado que houve um aumento na dispersão da zona de amostragem. A bobina de  $50 \text{ cm}$  foi então selecionada para dar continuidade ao estudo, como é mostrado na **Figura 9** o resultado desse estudo.



**FIGURA 9:** Estudo do comprimento da bobina. Solução de referência de diclofenaco de sódio  $40 \text{ mg.mL}^{-1}$ ; Vazão de  $3,5 \text{ mL.min}^{-1}$ ; Tempo de inserção da amostra  $0,25 \text{ s}$ ; Tempo de inserção do reagente de  $0,2 \text{ s}$ ; Número de ciclos: 8;

### 3.2.4 – Estudo da concentração do Reagente

Convém salientar que o estudo para a concentração de reagente constitui um parâmetro químico em sistema FIA multicomutação com o objetivo de avaliar a influência da concentração do permanganato de potássio no intervalo de  $1,0 \times 10^{-4}$  a  $4,0 \times 10^{-4} \text{ Mol.L}^{-1}$  para a reação em questão, como mostra o gráfico da **Figura 10**. A Literatura científica descreve que quanto maior a concentração, maior será o número de colisões efetivas entre as partículas e conseqüentemente maior será a velocidade da reação.<sup>[82]</sup>



**FIGURA 10:** Estudo da concentração do reagente. Solução de referência de diclofenaco de sódio 40 mg.mL<sup>-1</sup>; Vazão de 3,5 mL.min<sup>-1</sup>; Tempo de inserção da amostra 0,25 s; Tempo de inserção do reagente de 0,2 s; Número de ciclos: 8; Bobina: 50 cm

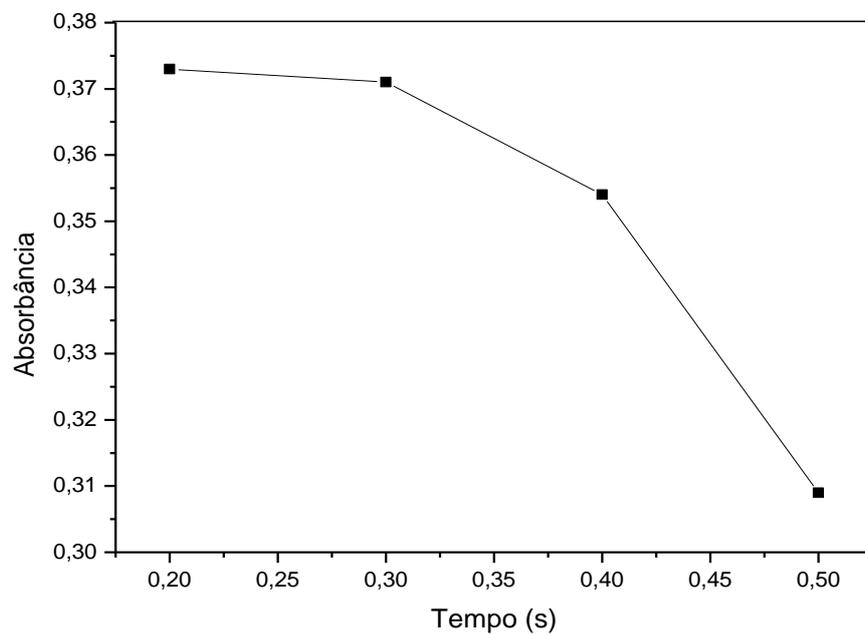
Com base nos resultados do gráfico da **Figura 10**, observa-se que houve acréscimo no sinal analítico à medida que se aumentou a concentração do reagente. Como pode se observar, mesmo se trabalhando com concentrações menores, ainda assim não há perdas no sinal, no que tange ao dimensionamento do sistema.

Com o objetivo de minimizar o efeito dos impactos ambientais decorrentes do uso de metodologias para determinação de fármacos<sup>[83]</sup> e os efeitos nocivos do reagente<sup>[84]</sup>, optou-se por trabalhar com a concentração de  $3 \times 10^{-4}$  Mol.L<sup>-1</sup>.

### 3.2.5 – Estudo do tempo de inserção do reagente

O objetivo do estudo do tempo de inserção do reagente consiste em aumentar a magnitude do sinal analítico e diminuir o sinal do branco.

Avaliou-se o tempo de inserção da válvula do reagente (válvula V2) no intervalo de 0,2 a 0,5 segundos, o que equivale respectivamente a um volume de 11,6 a 29,1  $\mu\text{L}$ , mantendo-se constante o tempo de inserção da válvula da amostra em 0,25 segundos, cujo volume é de 14,6  $\mu\text{L}$ . Observou-se uma diminuição considerável no sinal analítico para os tempos de 0,3 a 0,5 s. O que se pode deduzir que o excesso de reagente não melhora nos sinais analíticos da reação devido a um maior sinal no branco. O resultado desse estudo pode ser observado na **Figura 11**.

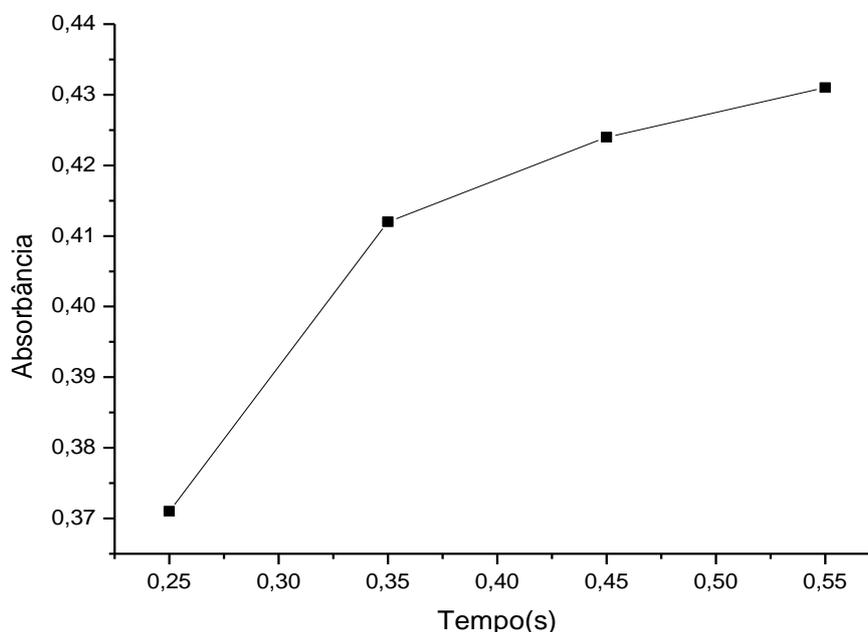


**FIGURA 11:** Estudo do tempo de inserção do reagente. Solução de referência de diclofenaco de sódio  $40 \text{ mg.mL}^{-1}$ ; Vazão de  $3,5 \text{ mL.min}^{-1}$ ; Tempo de inserção da amostra 0,25 s; Concentração do reagente:  $3 \times 10^{-4} \text{ Mol.L}^{-1}$ ; Número de ciclos: 8; Bobina: 50 cm.

Com base nesse volume, foi possível calcular o consumo mínimo da massa do reagente, utilizando-se a fórmula de concentração comum <sup>[82]</sup> e os valores conhecidos da concentração e do volume do reagente, a massa calculada foi de 0,464  $\mu\text{g}$ .

### 3.2.6 – Estudo do tempo de inserção da amostra

Para finalizar o estudo do dimensionamento do sistema, o tempo de inserção da amostra (Válvula V1) foi avaliado no intervalo de 0,25 a 0,55 segundos, o que equivale respectivamente a um volume de 14,6 a 32,0  $\mu\text{L}$ , mantendo-se nesse caso constante os demais parâmetros. Com esse estudo pretendeu-se obter ganhos no sinal analítico à medida que se aumentou o volume da amostra no percurso analítico, permitindo assim verificar quais são as melhores condições de trabalho como objetivo de se obter uma boa sensibilidade. Observou-se que houve um acréscimo significativo no sinal analítico para o tempo de 0,35 s; com leve aumento para tempos superiores a este, como mostra a **Figura 12**. Verificou-se que houve uma diminuição na reprodutibilidade dos sinais e instabilidade na linha de base para o tempo de 0,55 s. O tempo para a inserção da amostra de 0,35 s, o que equivale a um volume de 20,4  $\mu\text{L}$ , foi selecionado.



**FIGURA 12** - Estudo do tempo de inserção da amostra. Solução de referência de diclofenaco de sódio  $40 \text{ mg.mL}^{-1}$ ; Vazão de  $3,5 \text{ mL.min}^{-1}$ ; Tempo de inserção do reagente 0,2s; Concentração do reagente:  $3 \times 10^{-4} \text{ Mol.L}^{-1}$ ; Número de ciclos: 8; Bobina: 50 cm

A partir do volume escolhido para o dimensionamento do sistema e utilizando a fórmula de concentração comum <sup>[82]</sup>, a massa calculada para o consumo da amostra no sistema em fluxo foi de 0,816 µg.

A **Tabela 1** mostra o resultado do dimensionamento do sistema FIA-multicomutação. Nessa tabela é possível verificar os resultados avaliados para cada parâmetro, assim como o resultado escolhido. A partir desse estudo foi possível realizar a construção da curva de calibração e a determinação de diclofenaco de sódio em formulação injetável. Convém salientar que a Farmacopeia brasileira carece de metodologia para determinar esse fármaco em formulação injetável, então para verificar a eficiência do sistema e do método, optou-se por trabalhar seguindo os mesmos procedimentos adotados pela Farmacopeia para comprimidos.

**Tabela 1.** Valores obtidos após a otimização do sistema em fluxo proposto.

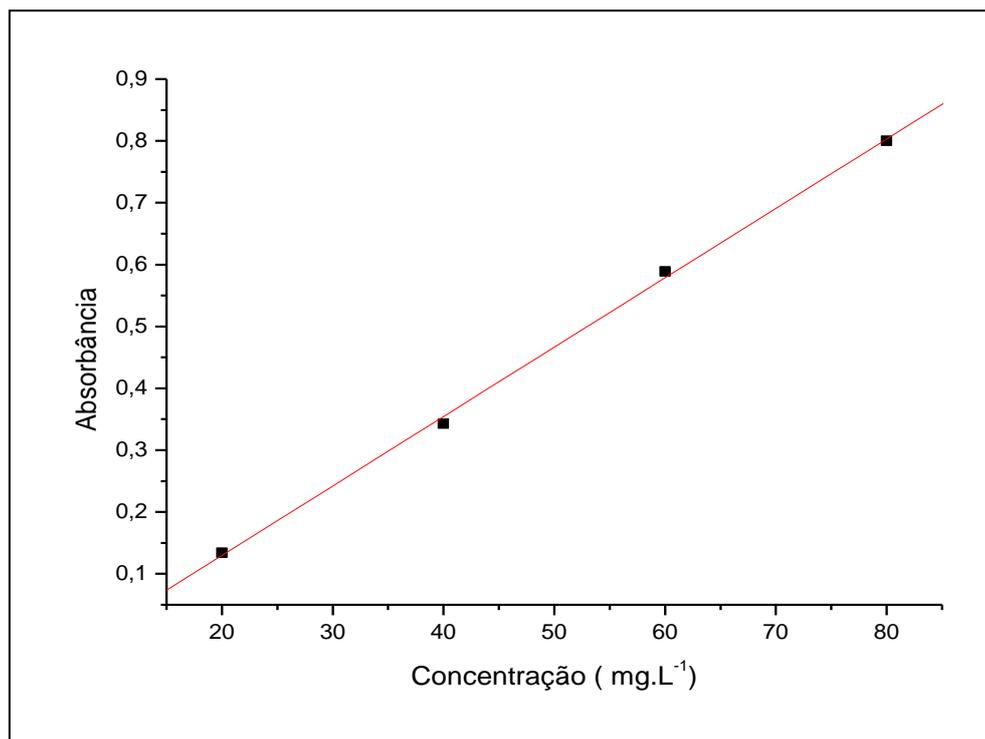
Parâmetros	Intervalo avaliado	Resultado escolhido
Vazão mL.min <sup>-1</sup>	2,5 a 4,0	3,5
Número de ciclos /s	6,0 a 12,0	8,0
Concentração do reagente/ Mol.L <sup>-1</sup>	1,0x10 <sup>-4</sup> a 4,0x10 <sup>-4</sup>	3,0x10 <sup>-4</sup>
Bobina / cm	40 a 75	50
Tempo inserção do reagente/s	0,2 a 0,5	0,2
Tempo de inserção da amostra / s	0,25 a 0,55	0,35

### 3.3 - Aplicações do sistema otimizado

#### 3.3.1 - Curva de calibração

Após o dimensionamento do sistema em fluxo proposto, a curva de calibração foi linear no intervalo de concentração de 20 a 80 mg.L<sup>-1</sup> de diclofenaco de sódio,

apresentando um coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,9994 e coeficiente angular  $S = 0,24$ . A partir do parâmetro obtido com esta curva, o valor aproximado para o limite de detecção foi de  $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$  de acordo com o critério  $3\sigma/S$ , onde  $\sigma$  corresponde ao desvio padrão do branco, enquanto que o limite de quantificação foi de  $0,3 \text{ mg.L}^{-1}$ , adotando-se o critério  $10\sigma/S$ . O gráfico da **Figura 13** mostra a curva analítica.

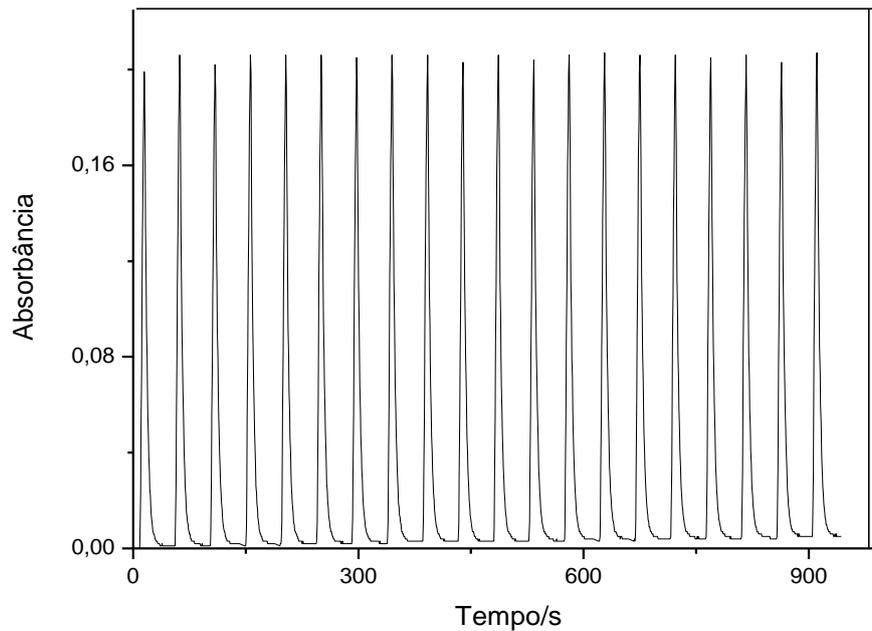


**FIGURA 13:** Curva de Calibração obtida com os parâmetros otimizados do sistema em fluxo. Soluções de referência de diclofenaco de sódio  $20, 40, 60$  e  $80 \text{ mg.mL}^{-1}$ ; Vazão de  $3,5 \text{ mL.min}^{-1}$ ; Tempo de inserção do reagente  $0,2\text{s}$ ; Concentração do reagente:  $3 \times 10^{-4} \text{ Mol.L}^{-1}$ ; Tempo de inserção da amostra  $0,35 \text{ s}$ ; Número de ciclos: 8; Bobina:  $50 \text{ cm}$ .

### 3.3.2 – Estudo da Repetitividade

O estudo de repetibilidade foi realizado para verificar se o sistema se mantém estável para um determinado número de determinações sucessivas. O gráfico da **figura 14** mostra o resultado desse estudo, no qual é observado que o sistema manteve-se estável para um número de 20 determinações sucessivas ( $n=20$ ) para uma concentração de diclofenaco de sódio de  $20 \text{ mg.L}^{-1}$ . Utilizando-se o mesmo número

de determinações para a mesma concentração, o sistema apresentou um desvio padrão relativo ou coeficiente de variação de 0,9% e uma frequência analítica de 80 determinações por hora.



**FIGURA 14:** Sinais transientes obtidos pelo estudo de repetibilidade. Solução de referência de diclofenaco de sódio  $20 \text{ mg.mL}^{-1}$ ; Vazão de  $3,5 \text{ mL.min}^{-1}$ ; Tempo de inserção do reagente  $0,2\text{s}$ ; Concentração do reagente:  $3 \times 10^{-4} \text{ Mol.L}^{-1}$ ; Tempo de inserção da amostra  $0,35 \text{ s}$ ; Número de ciclos: 8; Bobina: 50 cm.

Com base no resultado da frequência analítica e da curva de calibração, pode-se concluir que o sistema proposto apresenta uma excelente repetibilidade, devido ao menor desvio padrão, além de uma boa sensibilidade, no que tange a faixa de concentração desejada para se determinar o diclofenaco de sódio em formulação injetável.

### 3.3.3 – Comparação do método proposto com a metodologia da Farmacopeia Brasileira e com o método automático que emprega o conceito SIA e a mesma reação

Para se verificar a eficiência do método proposto para determinação do diclofenaco de sódio em amostras injetáveis, este método foi comparado com a metodologia oficial descrita pela Farmacopeia Brasileira<sup>[5]</sup> e com outro método automático que é descrito na Literatura científica que emprega o conceito SIA e utiliza a mesma reação.<sup>[78 – 80]</sup> A comparação para com o método SIA, deve-se a esta ser empregada em escala industrial.<sup>[6]</sup> O resultado dessa comparação é observado nas **Tabelas 2 e 3**.

**Tabela 2.** Resultado comparativo do método proposto em fluxo com o método descrito pela Farmacopeia Brasileira para determinação de diclofenaco de sódio em formulação injetável.

Amostras	Metodologia oficial <sup>[5]</sup>	Método proposto (FIA-multicomutação)
1	26,9 ± 0,07	26,3 ± 0,48
2	27,0 ± 0,07	26,2 ± 0,16
3	26,9 ± 0,07	26,6 ± 0,16

( n = 3 e 95% de confiabilidade)

O teste T<sup>[82]</sup> pareado foi realizado para verificar se há concordância entre os métodos. E de acordo com os cálculos realizados, o Tcal (4,02) foi menor que o Tcrít (4,30), levando-se em consideração o nível de confiança de 95% para o número de três amostras. Em vista desse resultado, pode-se concluir não há diferenças significativas entre os métodos.

A **Tabela 3** mostra o resultado comparativo do método proposto em fluxo com o método automático SIA para determinação de diclofenaco de sódio em formulação

injetável que emprega a mesma reação. E de acordo com essa tabela, pode-se observar que o método proposto apresentou limite de detecção e desvio padrão relativo (RSD %), para o estudo de repetibilidade, menor que aqueles que são descritos em artigos publicados.<sup>[79-81]</sup> Outra questão observada está na elevada frequência analítica do método proposto quando comparado com a frequência analítica descrita por Rodrigues e colaboradores<sup>[81]</sup>. Com esta observação pode-se concluir que o sistema FIA multicomutação para a determinação do fármaco em questão que empregou a mesma reação foi capaz de se fazer uma determinação de 5,3 vezes maior do que o sistema SIA.<sup>[43]</sup>

Convém salientar que o trabalho de Rodrigues<sup>[81]</sup> foi realizado empregando-se a reação de oxidação do diclofenaco com o permanganato de potássio em meio básico. No presente trabalho, a escolha da solução de permanganato de potássio em meio ácido, deve-se às condições de estabilidade dessa solução nesse meio.<sup>[84]</sup> E mesmo alterando as condições do meio, pode-se verificar que não houve interferências na frequência analítica no método proposto, o que permite deduzir que o sistema em questão é que é versátil.

O mérito do procedimento aqui proposto se reflete na simplicidade, baixo custo na instrumentalização do sistema e na frequência analítica.

**Tabela 3.** Resultado comparativo do método proposto em fluxo com o método automático SIA

Figuras de mérito	[79]	[80]	[81]	Método proposto
<b>Lineradidade (mg.L)</b>	10 - 150	30 - 135	10 - 100	20 - 80
<b>Limite de Detecção/ (mg.L)</b>	1,37	0,24	5,0	0,100
<b>RSD (%)</b>	1,3	1,5	2,9	0,9
<b>Frequência h<sup>-1</sup></b>	Não determinado	Não determinado	15	80

## 4 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi adaptada uma metodologia para determinação de diclofenaco de sódio em formulação injetável com permanganato de potássio em meio ácido em sistema em fluxo que emprega conceito de multicomutação com detecção espectrofotométrica UV visível.

Nesse sistema em fluxo, a inserção das amostras e reagente é realizada através do acionamento das válvulas solenoides de três vias, o que permitiu ao sistema proposto um módulo de análise com estrutura fácil e de boa estabilidade, consumo mínimo de amostra e reagente, o que gera menos resíduos, menor impacto ambiental e elevada frequência analítica quando comparado com outros métodos automáticos que empregam o conceito SIA e que utilizam a mesma reação. Foi observado também que a partir do Teste T pareado não houve diferenças significativas do método proposto com a metodologia empregada pela Famarcopeia Brasileira.

Diante dos resultados expostos nesse trabalho, pode-se concluir que o sistema FIA que emprega conceitos de multicomutação é uma excelente ferramenta analítica que pode ser utilizada posteriormente na determinação desse fármaco em outras formulações, devido as vantagens até então apresentadas.

## 5 REFERÊNCIAS

1. FAMAHEY JP: The interest of intramuscular administration of NSAIDS (Editorial). **Rev. Bras Reumatol** . 34: 153, 1994.
2. RT SANE, RS SAMANT, VG NAYAK, DROGAS Dev. **Ind. Pharm.** 13: 307, 1987.
3. GOLCMAN B, GOLCMAN R, CASTRO LGM, MIZOGUCHI M: Necrose Tecidual após injeção intramuscular de diclofenaco de sódio. **An Bras Dermatol** 66: 65, 1991.
4. GIOVANNETTI M, MARCEL A.C.M, BORRELLI J.R.M; IKEJIRI, C.I; ALONSO, N; BIANCO, P. D: Necrose tecidual: efeito colateral do diclofenaco de sódio, relato de casos e discussão da fisiopatologia. **Rev Hosp Clin Fac Med**, 48: 39, 1993.
5. FARMACOPEIA brasileira. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1988.
6. PIMENTA, A.M *et al.* Application of sequential injection analysis to pharmaceutical analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. 40: 16, 2006.
7. TZANAVARAS D.P; DEMETRIUS G. T. Review of recent applications of flow injection spectrophotometry to pharmaceutical analysis. *Anal Chim Acta*. 588: 1, 2007.
8. SANTOS, L.H.M.M. **Análise automática de gentamicina por quimiluminescência**. 2008. Dissertação (Mestrado em controle de qualidade) – Universidade do Porto, Portugal, 2008.
9. LAVORANTE, A. F. ; FERES, M. A. ; REIS, B. F. Multi-commutation in Flow Analysis: A Versatile Tool for the Development of the Automatic Analytical Procedure Focused on the Reduction of Reagent Consumption. **Spectroscopy Letters**. 39: 631, 2006.
10. GIAGOUDAKIS, G.; MARKANTONIS, S. L. An alternative high-performance liquid chromatographic method for the determination of diclofenac and flurbiprofen in plasma. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis** . 17: 897, 1998
11. AGUIAR, F. A. **Caracterização das propriedades do estado sólido do diclofenaco de sódio e avaliação dessas propriedades no perfil in vitro de dissolução e no efeito farmacológico**. 2009. 103 f. Dissertação (Mestrado em Medicamentos e Cosméticos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
12. MARTINS, J. M. **Avaliação da atividade antipirética do diclofenaco de sódio**. 2006. 90 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.
13. GUIDANCE for industry: waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system. **Rockville: FDA**, 2000, 13 p.
14. SANTOS, L. H. **Avaliação das atividades antiinflamatórias, antinociceptiva e da incidência de lesão gástrica do complexo diclofenaco-zinco em ratos**. 2001.

104 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2001.

15. SALLMANN, A. R. The history of diclofenac. **Am. J. Med.**80: 29, 1986.

16. MENASSÉ, R.; HEDWALL, P. R.; KRAETZ, J.; PERICIN, C.; RIESTERER, L.; SALLMANN, A.; ZIEL, R.; JAQUES, R. Pharmacological properties of diclofenac sodium and its metabolites. **Scand. J. Rheumatol Suppl.**22: 5, 1978.

17. C. M. ADEYEYE; KAI L. P. Diclofenac Sodium, analytical Profile of Drugs Substance. 19: 23, 1990.

18. BURKE, A.; SMYTH, E. M.; FITZGERALD, G. A. Analgesics-antipyretics and antiinflammatory agents: pharmacotherapy of gout. In: BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. (Ed.). The pharmacological basis of therapeutics. 11th ed. New York: McGraw-Hill Professional; 2005. cap. 26, p. 671-715.

19. CARVALHO, W. A. **Anti-inflamatórios nãoesteróides, analgésicos, antipiréticos e drogas utilizadas no tratamento da gota.** In: SILVA, P. (Ed.). Farmacologia. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2010. cap. 45, p.439-466.

20. SANTOS, L. H. **Avaliação das atividades antiinflamatórias, antinociceptiva e da incidência de lesão gástrica do complexo diclofenaco-zinco em ratos.** 2001. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2001.

21. FOWLER, P. D.; SHADFORTH, M. F.; CROOK, P. R.; JOHN, V. A. Plasma and synovial fluid concentrations of diclofenac sodium and its major hydroxylated metabolites during long-term treatment of rheumatoid arthritis. **Eur J Clin Pharmacol.**, v. 25, p. 389-394, 1983.

22. CARDOSO, M. M. S. C.; CARVALHO, J. C. A.; TAHAMTANI, S. M. M. Diclofenaco por via muscular ou retal associado com baixas doses de morfina subaracnóidea para analgesia pós-operatória em cesarianas **Rev. Bras. Anestesiol.** Campinas, v. 52, n. 6, nov./dez. 2002.

23. MENDES, G. B. B., FRANCO, L. M., MORENO, R. A., FERNANDES, A. G., MUSCARA, M. N., DE NUCCI, G. Comparative bioavailability of two suspension formulations of potassium diclofenac in healthy male volunteers. **Int. Clin. Pharmacol. Ther**, 82: 131, 1994.

24. PEREIRA, H. L. A.; RIBEIRO, S. L. E.; CICONELLI, R. M. Tratamento com antiinflamatórios tópicos na osteoartrite de joelho. **Rev Bras Reumatol**, 46: 188, 2006.

25. NOVARTIS, disponível em: < <http://www.novartis.com.br/>> acesso: 30. Dez.2013.

26. SECOLI, S. R.; LEBRÃO, M. L. Risco de eventos adversos e uso de medicamentos potencialmente interativos. **Saúde Coletiva**, 30: 113, 2009.

27. JOHN, V. A. The pharmacokinetics and metabolism of diclofenac sodium (votrol) in animals and man. **Rheumatol Rehabil.** 2: 22, 1979.

28. SCIENCE DIRECT, disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/>> acesso: 20. Dez.2013.

29. BRITISH PHARMACOPEIA. London: Her Majesty's Stationery Office, 2004.
30. GHASEMI, J.; NIAZI, A.; GHOBADI, S. Simultaneous spectrophotometric determination of benzyl alcohol and diclofenac in pharmaceutical formulations by chemometrics Method. **Journal of the Chinese Chemical Society**, 52:1049, 2005.
31. . GHASEMI, J.; NIAZI, A.; GHOBADI, S. Simultaneous spectrophotometric determination of benzyl alcohol and diclofenac in pharmaceuticals using methods based on the first derivative of the optical density ratio. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, 39: 671, 2005.
32. CHOUDHARY, B.; GOYAL, A.; KHOKRA, L.S. Spectrophotometric methods for simultaneous estimation of diclofenac sodium and rabeprazole in combined dosage form. **Asian Journal of Chemistry**, 22: 562, 2010.
33. KORMOSH, Z. O; HUNKA, I.P; BAZEL, R. Y. A new analytical form for the spectrophotometric determination of low levels of diclofenac. **Методы и объекты химического анализа**, 01: 76, 2007.
34. GHIASVAND,A.R; TAHERIMASLAK, Z; BADIEE, M.Z; FARAJZADEH, M.A. A new homogeneous liquid-liquid extractive spectrophotometric method for determination of diclofenac in urine. **Oriental Journal of Chemistry**, 24: 83, 2008.
35. MITIĆ, S *et al.* Determination of diclofenac sodium in commercial pharmaceutical formulations and human control serum using a kinetic-spectrophotometric method. **Chem Pharm Bull.** 55: 1423, 2007.
36. CIAPINA, E. G. *et al.* Spectrophotometric determination of diclofenac in pharmaceutical preparations assisted by microwave oven. **Eclética Química**, 30: 29, 2005.
37. MATIN, A.A; FARAJZADEH, M.A; JOUYBAN, A. A simple method for the determination of diclofenac sodium in pharmaceutical formulations. **Farmaco**, 60: 855, 2005.
38. SOUZA,R.L; TUBINO, M. Spectrophotometric determination of diclofenac in pharmaceutical preparations. **J. Braz. Chem. Soc.** 16: 1068, 2005.
39. BARRY, ; M.M.A; Hamezh, J.M. Spectrophotometric Determination of Diclofenac sodium in Pharmaceutical preparations. **Journal of Kerbala University** , 7: 310, 2009.
40. PANDEY, G. Spectrophotometric methods for estimation of diclofenac sodium in tablets. **International Journal of Biomedical and Advance Research**, 4: 2013.
41. TROJANOWICZ, M (editor). *Advances in Flow Analysis*. Weinheim: Wiley-VCH. 2008.
42. BARNETT, N.W.; LENEHAN, C.E.; LEWIS, S.W. Sequential injection analysis: an alternative approach to process analytical chemistry. **Trends in Analytical Chemistry**, 18: 346, 1999.
43. ROCHA, F.R.P. Multicommutation in flow analysis: concepts, applications and trends. **Anal. Chim. Acta**, 468: 119, 2002.

44. BURGUERA, J.L.; BURGUERA, M. Pretreatment of oily samples for analysis by flow injection - spectrometric methods. **Talanta**, 83: 691, 2011.
45. DINIZ, P.H.G.D. *et al.* Flow-batch analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, 35: 39, 2012.
46. HONORATO, R.S. *et al.* A flow-batch titrator exploiting a one-dimensional optimization algorithm for end point search. **Analytica Chimica Acta**, 396: 91, 1999.
47. SOUZA, M.C. *et al.* Kinetics independent spectrometric analysis using non-linear calibration modelling and exploitation of concentration gradients generated by a flow-batch system for albumin and total protein determination in blood serum. **Talanta**, 82: 1027, 2010.
48. KRUG, F.J. *et al.* Flow injection spectrophotometric determination of boron in plant material with azomethine-H. **Anal. Chim. Acta**, 125: 29, 1981.
49. ZHENGJUN, G. *et al.* Flow injection kinetic spectrophotometric determination of trace amounts of Se(IV) in seawater. **Talanta**, 66: 1012, 2005.
50. ARRUDA, M.A.Z.; ZAGATTO, E.A.G. A simple stopped-flow method with continuous pumping for the spectrophotometric flow-injection determination of boron in plants. **Anal. Chim. Acta**, 199: 137, 1987.
51. STADEN, J.K.F.; TSANWANI, M.M. Determination of boron as boric acid in eye lotions using a sequential injection system. **Talanta**, 58: 1103, 2002.
52. OHIRA, S.; KIRK, A.B.; DASGUPTA, P.K. Automated measurement of urinary creatinine by multichannel kinetic spectrophotometry. **Anal. Biochem**, 384: 238, 2009.
53. TUMANG, C.A. *et al.* Multicommutation in flow analysis exploiting a multizone trapping approach: spectrophotometric determination of boron in plants. **Anal. Chim. Acta**. 374: 53, 1998.
54. ANDRADE, J.C. *et al.* Spectrophotometric determination of boron in plants using monosegmented continuous flow analysis. **Analyst**. 113: 289, 1988.
55. PASQUINI, C.; OLIVEIRA, W.A. Monosegmented system for continuous flow analysis. Spectrophotometric determination of chromium(VI), ammonia and phosphorus. **Anal. Chem**. 57: 2575, 1985.
56. NOGUEIRA, A.R.A. *et al.* Multi-site detection in flow analysis: Part 2. Monosegmented systems with relocating detectors for the spectrophotometric determination of boron in plants. **Anal. Chim. Acta**. 276: 121, 1993.
57. FACCHIN, I. **Extração Líquido-Líquido em Sistema de Fluxo Monossegmentado**. Campinas, Programa de Pós-Graduação em Química, UNICAMP, 1996. Tese de Doutorado, 188p.
58. VAN DER LINDEN, W.E. *Pure Appl. Chem.* 1994 , 66 , 2494.

59. ZAGATTO, E.A.G. et al. Information essential for characterizing a flow-based analytical system, **International Union of Pure and Applied Chemistry**. 74: 585, 2002.
60. KOLEV, S.D. MCKELVIE, I.D. (Editores), *Comprehensive Analytical Chemistry. Advances in flow injection analysis and related techniques*. **Amsterdam: Elsevier**. 2008.
61. SKEGGS, L.T. An automatic method for colorimetric analysis. **Amer. J. Clin. Pathol.** 28: 311, 1957.
62. COVERLY, S. **Encyclopedia of Analytical Science**, 2<sup>a</sup> ed., Elsevier, Norderstedt, p210, 2005.
63. RUZICKA, J.; HANSEN, E.H. Flow injection analysis. Part I. A new concept of fast continuous flow analysis. **Anal. Chim. Acta.** 781: 145, 1975.
64. REIS, B.F. Análise química por injeção em fluxo: vinte anos de desenvolvimento. **Quim. Nova.** 19: 51, 1996.
65. PASQUINI, C. **Instrumentação e metodologia para análise em fluxo contínuo. Desenvolvimento de um entalpímetro de fluxo, de um sistema monossegmentado e construção de um circuito retentor de picos**. Campinas, Programa de Pós-Graduação em Química, UNICAMP, 1984. Tese de Doutorado, 123p.
66. AQUINO, E.V.; ROHWEDDER, J.J.R.; PASQUINI, C. A monosegmented-flow Karl Fischer titrator. **Talanta.** 71: 1288, 2007.
67. SILVA, M.D.H. *et al.* Determination of gaseous species by monosegmented flow systems. Volumetric determination of oxygen and carbon dioxide. **Anal. Chim. Acta.** 349: 377, 1997.
68. SILVA M.D.H.; ROHWEDDER J.J.R.; PASQUINI C. Determination of CO<sub>2</sub> in gaseous samples using a monosegmented flow system and conductimetric detection. **Anal. Chim. Acta.** 366: 223, 1998.
69. FACCHIN, I. *et al.* Single-phase liquid-liquid extraction in monosegmented continuous-flow systems. **Anal. Chim. Acta.** 285: 287, 1994.
70. FACCHIN, I.; PASQUINI, C. Two-phase liquid-liquid extraction in monosegmented flow analysis. Determination of cadmium with 1-(2'-pyridylazo) naphthol. **Anal. Chim. Acta.** 308: 231, 1995.
71. TIAN, L.C. *et al.* Segmental flow-injection analysis: device and applications. **Anal. Chim. Acta.** 238: 183, 1990.
72. RUZICKA, J.; MARSHALL, G. D. Sequential injection: a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays. **Anal. Chim. Acta.** 237: 329, 1990.
73. RUZICKA, J.; MARSHALL, G. D. Sequential injection: a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays. **Anal. Chim. Acta.** 237: 329, 1990.

74. PINTO P.C.A.G; SARAIVA M.L.M.F.S; SANTOS J.L.M; LIMA J.L.F.C. A pulsed sequential injection analysis flow system for the fluorimetric determination of indomethacin in pharmaceutical preparations. **Anal. Chim. Acta.** 539: 2005.
75. REIS, B.F. *et al.* Multicommutation in flow analysis. Part 1. Binary sampling: concepts, instrumentation and spectrophotometric determination of iron plant digests. **Anal. Chim. Acta.** 293: 129, 1994.
76. ROCHA, F. R. P; REIS, B. F.; ZAGATTO, E. A. G.; LIMA, J. L. F. C.; LAPA, R. A. S.; SANTOS, J. L. M. Multicommutation in flow analysis: concepts, applications and trends. **Anal. Chim. Acta**, 468, 2002.
77. ROCHA, F. R. P. **Determinações sequenciais em sistemas de injeção em fluxo empregando multicomutação e multidetecção.** 2001. Tese (Doutorado em Química Analítica) Universidade federal de São Carlos, São Carlos, 2001.
78. GARCIA, S *et al.* Flow-Injection spectrophotometric determination of diclofenac or mefenamic acid in pharmaceuticals. **Mikrochim. Acta**, 136: 67, 2001.
79. SULTAN, M.S *et al.* Sequential injection spectrophotometric method for the assay of antiinflammatory diclofenac sodium in pharmaceutical preparations . **J. Flow Injection Anal**, 27: 49, 2010.
80. ABUBAKR, M, I. Screening of conditions controlling spectrophotometric sequential injection analysis. **Chemistry Central Journal**, 5: 9, 2011.
81. RODRIGUEZ, J.A *et al.* Sequential injection spectrophotometric determination of diclofenac in urine and pharmaceutical formulations. **J. Flow Injection Anal**, 25: 39, 2008.
82. SKOOG, D. A, WEST, D. M., HOLLER, F. J., CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**, Editora Thomson, tradução da 8ª edição, 2006.
83. BILA, M.D; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. **Quim. Nova**, 26: 523, 2003.
84. G. LUNN, E.B. SANSONE. **Destruction of Hazardous Chemicals in the Laboratory**, Wiley, New York, 1990.