

DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE DIPIRONA EM PRODUTOS FARMACÊUTICOS POR INJEÇÃO EM FLUXO PELA GERAÇÃO DE ÍONS TRIODETO

Airton Vicente Pereira*, Luciane Penckowski, Marcos Vosgerau e Michelli Fernanda Sassá

Departamento de Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual de Ponta Grossa, CP 195, 84030-900 Ponta Grossa - PR

Orlando Fatibello Filho

Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, CP 676, 13565-975 São Carlos - SP

Recebido em 9/5/01; aceito em 7/11/01

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF METAMIZOL IN PHARMACEUTICAL FORMULATIONS BY FLOW INJECTION TRIIODIDE GENERATION. A flow injection spectrophotometric procedure was developed for the determination of metamizol in pharmaceutical formulations. The system is based on the reaction between metamizol and triiodide generated in the system by mixing iodate and iodide-starch solutions. The absorbance of triiodide-starch complex giving a steady-state baseline value which was monitored at 580 nm. The inverse peaks caused by metamizol samples were measured and there was a direct relationship between absorbance decreasing and metamizol concentration from 1.4×10^{-4} to 7.0×10^{-4} mol L⁻¹. The RSD was 0.45 % for a metamizol solution 4.2×10^{-4} mol L⁻¹ (n = 10) with a detection limit (three-fold blank standard deviation/slope) of 6.0×10^{-5} mol L⁻¹. The feasibility of the system was demonstrated for the determination of metamizol in commercial samples with sixty results obtained per hour. The results obtained for metamizol in pharmaceutical formulations using the proposed flow procedure and those obtained using an iodimetric procedure are in agreement at the 95% confidence level and within an acceptable range of error.

Keywords: metamizol; triiodide generation; flow injection spectrophotometry; pharmaceutical formulations.

INTRODUÇÃO

A dipirona (ácido 1-fenil-2,3-dimetil-5-pirazolona-4-metilaminometanossulfônico) (Figura 1) é o analgésico antipirético mais utilizado no Brasil. Quimicamente, a dipirona é um derivado 5-pirazolônico com a presença de um grupo metanossulfônico na estrutura¹. É comercializada principalmente na forma sódica em diferentes formulações farmacêuticas (solução oral, injetável, comprimidos e supositórios).

A Farmacopéia Brasileira² preconiza a iodimetria para a determinação quantitativa da dipirona sódica (matéria-prima). O método consiste em solubilizar a amostra com água deionizada, acidificá-la com HCl 0,02 mol L⁻¹ e titular com uma solução padronizada de iodo 0,05 mol L⁻¹, utilizando-se como indicador uma solução de amido 1% m/v adicionada próximo ao ponto final. A titulação iodimétrica da dipirona está baseada na oxidação, em meio ácido, do grupo metanossulfônico a sulfato, de acordo com a reação:



O reagente azul de tetrazólio foi utilizado na determinação colorimétrica da dipirona em produtos farmacêuticos³. A reação da dipirona com ácido sulfúrico produz formaldeído que reage com o ácido 5-amino-a-naftolssulfônico formando um produto de cor amarela que se torna azul pela diluição com água. Esta reação já foi aplicada na determinação colorimétrica⁴ da dipirona em comprimidos, sangue e urina na faixa de 10-40 µg mL⁻¹. Estas reações são lentas e requerem aquecimento limitando o número de amostras a serem analisadas.

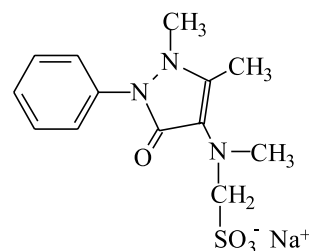


Figura 1. Fórmula estrutural da dipirona sódica

A espectrofotometria ultravioleta (280 nm) permitiu a determinação de dipirona como único princípio ativo em algumas amostras, mas esse procedimento é inadequado para dipirona em associação com outros fármacos, uma vez que estes absorvem nessa região do espectro eletromagnético. Entretanto, a espectrofotometria ultravioleta-derivativa⁵ permitiu a determinação da mistura ternária contendo dipirona, paracetamol e cafeína presentes em comprimidos.

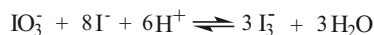
A cromatografia em camada delgada⁶ foi utilizada para a determinação dos principais metabólitos da dipirona no soro e na urina. Após a separação cromatográfica, procedeu-se a detecção espectrofotométrica em 265 nm. A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) tem sido aplicada principalmente quando há a necessidade da separação da dipirona em associação com outros fármacos⁷ e de seus metabólitos em amostras complexas como o plasma humano⁸.

A análise por injeção em fluxo permite minimizar erros decorrentes da manipulação de soluções, diminuir custos e aumentar a frequência de análise sobretudo quando um grande número de amostras deve ser analisado. Diversos sistemas por injeção em fluxo têm sido empregados no controle de qualidade de medicamentos⁹. Siste-

*e-mail: airtonvp@uepg.br

mas por injeção em fluxo com detecção amperométrica¹⁰ e espectrofotométrica¹¹ foram aplicados na determinação da dipirona em produtos farmacêuticos.

O emprego da análise por injeção em fluxo permite a geração em linha de íons I_3^- a partir de soluções de iodato e iodeto de potássio¹², em um meio de acidez controlada, conforme a reação¹³:



Neste trabalho, foi desenvolvido um sistema por injeção em fluxo para a geração de íons I_3^- e esse foi empregado na determinação de dipirona em produtos farmacêuticos. O sistema desenvolvido dispensa a preparação e padronização de soluções de iodo e supera o problema da instabilidade desta solução pela exposição ao ar, uma vez que as reações ocorrem em um sistema fechado e em poucos segundos. Os íons triiodeto gerados em linha, ao reagirem com a dipirona injetada no sistema, oxidam o grupo metanossulfônico do fármaco a sulfato. O consumo de íons I_3^- pela dipirona provoca um decréscimo da absorvância (linha base) do complexo triiodeto-amido que é monitorado espectrofotometricamente em 580 nm.

PARTE EXPERIMENTAL

Equipamentos

No sistema por injeção em fluxo desenvolvido neste trabalho, foi utilizada uma bomba peristáltica Ismatec de 8 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 de amostras foram injetadas utilizando-se um injetor-comutador duplo manual construído em acrílico e as medidas de absorvância foram obtidas utilizando-se um espectrofotômetro Micronal, modelo B 342 equipado com uma célula espectrofotométrica com caminho óptico de 1,0 cm.

Reagentes e soluções

A solução estoque de dipirona $2,8 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada diariamente, dissolvendo-se 50 mg de dipirona sódica em balão volumétrico de 50 mL com água deionizada. Essa solução foi utilizada para preparar as soluções de referência por diluições apropriadas.

A solução de iodeto de potássio $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ - amido a 0,1 % m/v foi preparada transferindo-se 10 g de amido solúvel para um béquer de 1 L e adicionados cerca de 800 mL de água deionizada. A solução foi aquecida até a completa solubilização do amido. Após o resfriamento, foram adicionados 0,42 g de iodeto de potássio (Synth). A solução foi transferida para um balão volumétrico de 1 L e o volume foi completado com água deionizada.

A solução estoque de iodato de potássio $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada com 0,2142 g de iodato de potássio (Merck) dissolvidos em água deionizada e o volume completado para 1 L em balão volumétrico. Esta solução foi utilizada nas diluições subsequentes.

Preparo das amostras

Amostras contendo dipirona nas formulações farmacêuticas solução, injetável e comprimidos foram adquiridas em farmácias da cidade de Ponta Grossa e analisadas pelo método proposto.

a) Comprimidos

Foram pesados e macerados 10 comprimidos até pó fino. Uma massa desse pó correspondente a 500 mg de dipirona foi transferida

para um balão volumétrico de 500 mL e adicionou-se água deionizada até completar esse volume. Após agitação, a solução foi filtrada através de papel de filtro, 15 mL do filtrado foram transferidos para um balão volumétrico de 100 mL e o volume completado com água deionizada. Alíquotas de 50 μL dessas soluções das amostras foram injetadas utilizando-se um injetor manual.

b) Injetável e Solução oral (gotas)

Foram transferidos volumes correspondentes a 500 mg de dipirona para balões volumétricos de 500 mL e adicionou-se água deionizada até completar esse volume. Alíquotas de 15 mL de cada uma dessas soluções foram transferidas para balões volumétricos de 100 mL e o volume completado com água deionizada. Alíquotas de 50 μL das soluções das amostras foram injetadas utilizando-se um injetor manual.

Sistema de injeção em fluxo

O sistema por injeção em fluxo proposto baseia-se na geração em linha de íons triiodeto. As soluções de iodato de potássio em meio ácido e iodeto de potássio contendo amido misturam-se a partir do ponto de confluência x_1 . A geração de íons triiodeto ocorre na bobina helicoidal B_1 e, imediatamente, devido a presença do amido, ocorre a formação do complexo triiodeto-amido de cor azul. Quando a alavanca do injetor manual é movimentada no sentido indicado (Figura 2), a solução de dipirona é inserida no percurso analítico e arrastada pela solução transportadora. A reação da dipirona com o complexo triiodeto-amido ocorre na bobina helicoidal B_2 , ocasionando um decréscimo no sinal da absorvância (diminuição da intensidade da cor azul devido ao consumo de triiodeto) continuamente monitorada em 580 nm. Esse decréscimo de absorvância foi proporcional à concentração de dipirona injetada no sistema em fluxo.

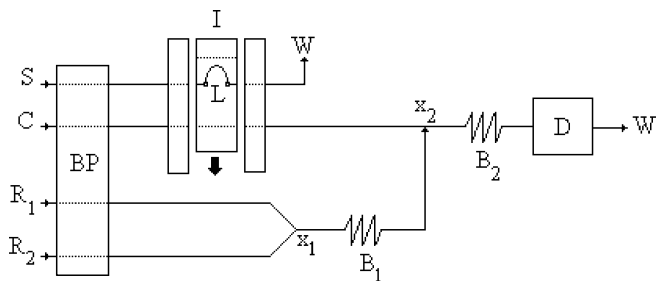


Figura 2. Diagrama de fluxo proposto para a determinação de dipirona. BP, bomba peristáltica; C, solução transportadora ($\text{HCl } 1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) com uma vazão de $2,7 \text{ mL min}^{-1}$; R_1 , solução de KIO_3 $6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{HCl } 1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ com uma vazão de $1,6 \text{ mL min}^{-1}$; R_2 , solução de $\text{KI } 2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ contendo amido a 0,1 % m/v com uma vazão de $1,6 \text{ mL min}^{-1}$; S, soluções de amostras; I, injetor na posição de aspiração da amostra; L, alça de amostragem (10 cm; 50 μL); B_1 e B_2 , bobinas de reação de 300 e 325 cm, respectivamente; x_1 e x_2 , pontos de confluência; D, espectrofotômetro (580 nm) e W, descarte

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Geração de íons triiodeto

O sistema em fluxo proposto foi baseado na reação entre o iodato de potássio e iodeto de potássio, em meio ácido, para produzir íons triiodeto. Inicialmente, o sistema foi montado para averiguar a efici-

ência na geração de íons triiodeto. O sistema em fluxo apresentado na Figura 2, permitiu a geração em linha dos íons triiodeto seguida da imediata complexação com o amido presente na solução de iodeto de potássio. A cor azul do complexo iodo-amido foi monitorada em 580 nm. O sistema em fluxo permitiu a obtenção de valores estáveis de absorbância (linha de base) evidenciando, assim, a geração contínua e reprodutível de íons triiodeto. Da mesma forma, a introdução de uma alíquota de 20 μL de solução de dipirona sódica 1,0 mg mL^{-1} permitiu constatar a reação da dipirona com o complexo amido-iodo, devido a diminuição do sinal analítico (absorbância).

Estudo dos parâmetros do sistema em fluxo

Os parâmetros do sistema de injeção em fluxo foram otimizados para obtenção dos melhores resultados em termos de sensibilidade e frequência analítica.

O efeito da concentração de iodato de potássio sobre a geração de íons triiodeto foi avaliado nas concentrações de $1,0 \times 10^{-5}$ a $6,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} (soluções em HCl $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1}) utilizando-se como R_2 uma solução de iodeto de potássio 0,1 mol L^{-1} contendo amido a 0,1 % m/v e água deionizada como transportador. Conforme apresentado na Figura 3, os valores da linha base aumentaram até atingir o valor de 1 unidade de absorbância com a solução de iodato de potássio $6,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} . Portanto, a solução do reagente iodato de potássio $6,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} foi escolhida para os experimentos posteriores.

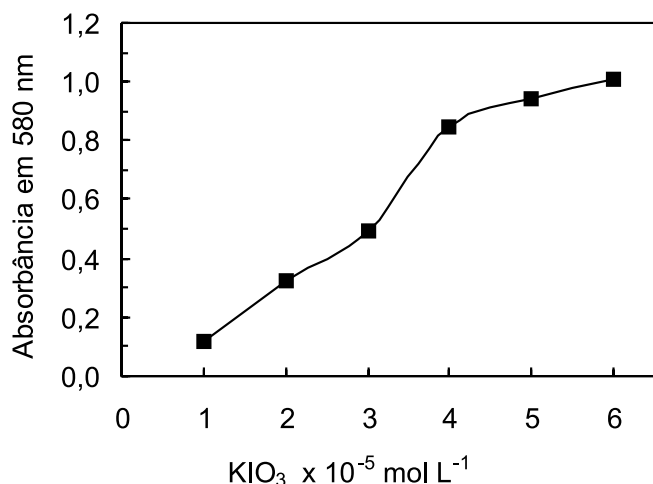


Figura 3. Efeito da concentração do iodato de potássio sobre o sinal de absorbância da linha base

O efeito da concentração de iodeto de potássio na geração de triiodeto foi avaliado na faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-3}$ a $1,0 \times 10^{-2}$ mol L^{-1} mantendo-se a concentração de amido 0,1% m/v. O gráfico apresentado na Figura 4 mostra que os sinais de absorbância aumentaram com o aumento da concentração de iodeto de potássio até uma concentração de $5,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} , acima da qual permaneceu constante. Portanto, a solução do reagente iodeto de potássio $2,5 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} foi escolhida para os experimentos posteriores.

O efeito da concentração do ácido clorídrico utilizado na preparação das soluções de iodato de potássio sobre a geração dos íons triiodeto foi avaliado na faixa de concentração de $5,0 \times 10^{-3}$ a $3,0 \times 10^{-2}$ mol L^{-1} . Os sinais de absorbância da linha base aumentaram com o aumento da concentração de ácido até uma concentração de $1,0 \times 10^{-2}$ mol L^{-1} , conforme apresentado na Figura 5. Portanto, a solução de ácido clorídrico de $1,0 \times 10^{-2}$ mol L^{-1} foi escolhida para a preparação das soluções de iodato de potássio $6,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} .

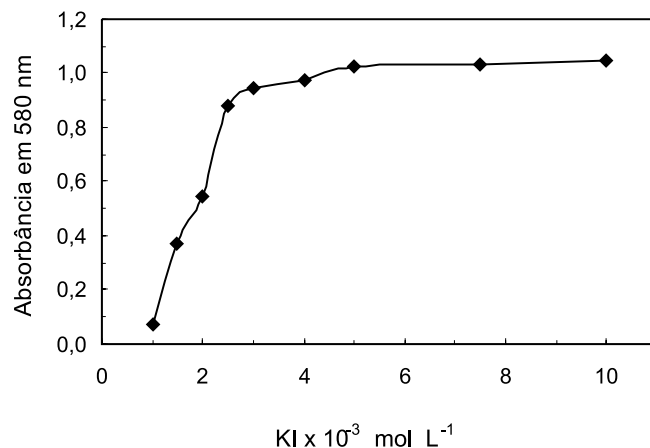


Figura 4. O efeito da concentração de iodeto de potássio sobre o sinal de absorbância da linha base

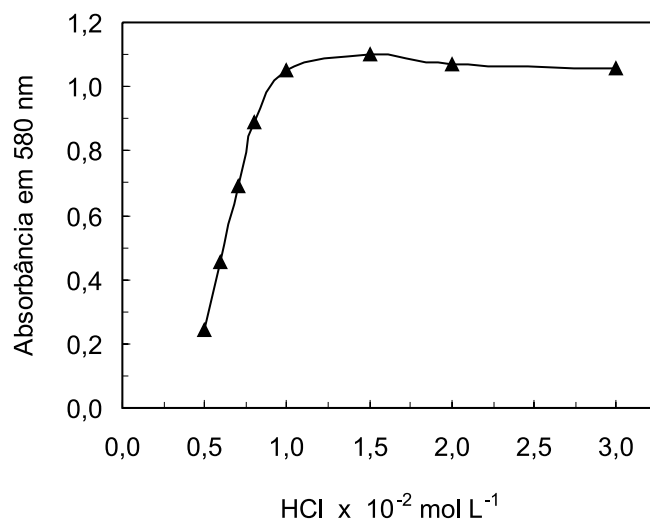


Figura 5. Efeito da concentração do ácido clorídrico utilizado nas soluções de iodato de potássio sobre a geração dos íons triiodeto

A concentração de amido presente na solução de iodeto de potássio foi estudada na faixa de 0,025 a 0,15 % m/v. Verificou-se um aumento dos valores de absorbância até a concentração máxima avaliada. Como a solução com concentração de amido de 0,15 % m/v apresentou uma ligeira turbidez decorrente da limitada solubilidade do amido, a concentração de 0,1 % m/v foi selecionada para o restante do trabalho.

Nos experimentos anteriores, a água deionizada foi utilizada como transportador. Estudou-se o efeito da utilização de solução de HCl como transportador no intervalo de concentração de $1,0 \times 10^{-3}$ a $2,0 \times 10^{-2}$ mol L^{-1} sobre a linha base. Ocorreu um ligeiro aumento da linha base até a máxima concentração de HCl avaliada. A solução de HCl $1,0 \times 10^{-2}$ mol L^{-1} foi então utilizada como solução transportadora, uma vez que foi constatada pequena diferença entre as linhas base obtidas com as soluções $1,0 \times 10^{-2}$ mol L^{-1} e $2,0 \times 10^{-2}$ mol L^{-1} .

A influência do comprimento dos reatores helicoidais B₁ (100, 150, 250, 300 e 400 cm) e B₂ (125, 225, 325 e 400 cm) sobre a geração de íons triiodeto foi estudada fixando-se inicialmente um reator B₂ de 225 cm. Os valores de absorbância da linha base aumentaram e com o aumento do comprimento desses reatores até 400 cm. Reatores helicoidais de 300 e 325 cm, respectivamente foram escolhidos como adequados em termos de sensibilidade e estabilidade da linha base.

O volume da amostra inserida no sistema foi avaliado utilizando-se comprimentos da alça de amostragem (L) de 10, 15, 20, 25 e 30 cm. Para uma solução de dipirona com concentração de $2,8 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, a magnitude do sinal analítico aumentou até 30 cm (150 μL). Entretanto, uma alça de amostragem de 10 cm (50 μL) foi escolhido para obtenção de uma frequência analítica mais elevada, mantendo-se a sensibilidade do procedimento para a determinação de dipirona na faixa de $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

O efeito da vazão da solução transportadora foi avaliada nos valores 1,0, 2,0 2,7 e 4,0 mL min^{-1} , mantendo-se constantes as vazões das soluções de iodato de potássio e iodeto de potássio-amido. Utilizando-se soluções de dipirona com concentrações entre $1,4 \times 10^{-4} - 5,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, a sensibilidade do procedimento em fluxo diminuiu com o aumento da vazão, provavelmente em consequência da diminuição do tempo de reação. Uma vazão de 2,7 mL min^{-1} foi escolhida para a solução transportadora.

As vazões dos reagentes R_1 e R_2 foram variadas simultaneamente nos valores de 0,9, 1,6, 2,4 e 3,0 mL min^{-1} , mantendo-se a vazão da solução transportadora em 2,7 mL min^{-1} . O aumento das vazões da solução reagente resultou na diminuição dos valores de absorvância. Nesse caso, vazões de 1,6 mL min^{-1} foram selecionadas para os reagentes R_1 e R_2 como uma combinação adequada entre sensibilidade e frequência analítica.

Estudo de interferentes em potencial e teste recuperação

O efeito de interferentes em potencial na determinação de dipirona em formulações farmacêuticas foi avaliado para excipientes normalmente presentes em amostras comerciais. Nesses experimentos, foram utilizadas soluções de referência de dipirona $2,8 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ adicionadas com cada um dos possíveis interferentes (carboximetilcelulose, cloreto de sódio, sacarina, glicose, sacarose, estearato de magnésio, lactose e cafeína) em concentrações de $2,8 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e os resultados foram comparados com aqueles obtidos com uma solução de referência de dipirona $2,8 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Nenhuma das substâncias testadas causou qualquer interferência na determinação de dipirona.

Nos testes de adição e recuperação do analito, três concentrações diferentes de dipirona foram adicionadas a quatro amostras de formulações farmacêuticas e os resultados comparados com aqueles obtidos com as amostras não adicionadas do analito. Os resultados estão apresentados na Tabela 1. Os valores percentuais de recuperação variaram entre 98,8 e 101,0 % sugerindo assim ausência de interferência da matriz no procedimento em fluxo.

Tabela 1. Resultados do teste de recuperação da dipirona adicionada às formulações farmacêuticas empregando o sistema em fluxo

Amostra	Dipirona (mg mL^{-1})		Recuperação (%)
	Adicionado	Recuperado*	
Anador	50	49,7	99,4
	100	100,3	100,3
	150	150,1	100,1
Conmel	50	50,4	100,8
	100	99,9	99,9
	150	149,3	99,5
Dexalgen	50	50,5	101,0
	100	99,7	99,7
	150	149,7	99,8
Magnopyrol	50	49,4	98,8
	100	100,2	100,2
	150	150,6	100,4

n = 5

Curva analítica e aplicações

O sistema em fluxo apresentou uma curva analítica no intervalo de concentração de $1,4 \times 10^{-4}$ a $7,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de dipirona ($\Delta A = 0,0217 + 0,0832 C$; $r = 0,9998$) onde ΔA é a variação de absorvância e C a concentração molar de dipirona). A curva analítica está apresentada na Figura 6. O método proposto apresentou um limite de detecção de $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (três vezes o desvio padrão do branco/inclinação da curva analítica), um desvio padrão relativo de 0,45 % (n = 10) para uma concentração de dipirona de $4,2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e uma frequência analítica de 60 determinações por hora. Um diagrama da curva analítica está apresentado na Figura 7.

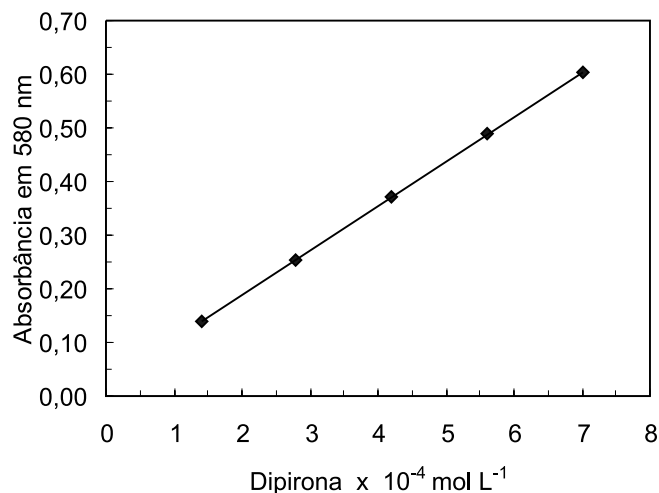


Figura 6. Curva analítica da determinação de dipirona sódica

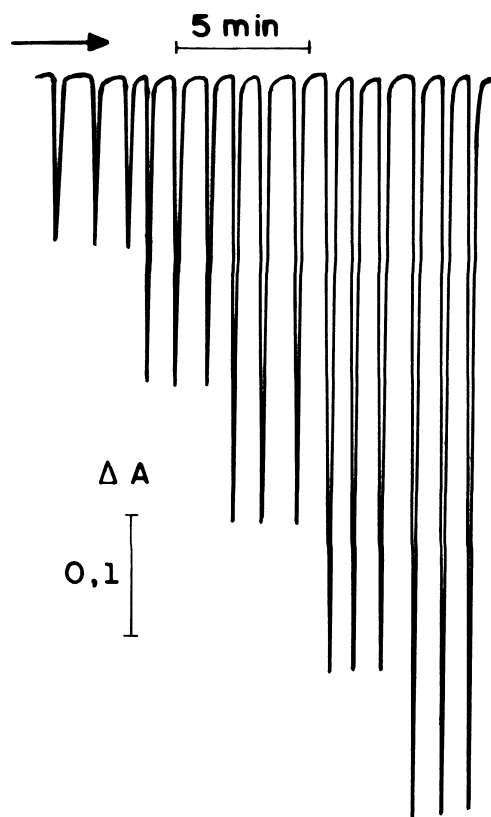


Figura 7. Diagrama típico da curva analítica obtido com o sistema em fluxo proposto para a determinação de dipirona. Da esquerda para a direita: triplicata das soluções de referência de dipirona nas concentrações de 1,4, 2,8, 4,2, 5,6 e $7,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$

O procedimento por injeção em fluxo foi aplicado na determinação de dipirona em diversos produtos farmacêuticos (Tabela 2). Aplicando-se o teste t pareado para os teores de dipirona encontrados empregando-se o procedimento em fluxo proposto e aqueles teores encontrados empregando um procedimento iodimétrico², encontrou-se que os resultados são concordantes a um nível de 95% de confiança. Esse mesmo resultado foi encontrado no teste t pareado com os valores rotulados.

Tabela 2. Determinação de dipirona em produtos farmacêuticos pelo sistema por injeção em fluxo e por iodimetria

Amostras	Rotulado	Iodimetria	FIA ²	Er ₁ (%)	Er ₂ (%)
Anador [®]	500*	505 ± 2	501 ± 1	- 0,8	+ 0,2
Anador [®]	500 ⁺	498 ± 2	505 ± 1	+ 1,4	+ 1,0
Conmel [®]	320 ⁺	327 ± 3	317 ± 1	- 3,1	- 0,9
Dexalgen [®]	500*	502 ± 2	504 ± 1	+ 0,4	+ 0,8
Novalgina [®]	500*	486 ± 3	488 ± 1	+ 0,4	- 2,4
Novalgina [®]	500 ⁺	517 ± 3	508 ± 1	- 1,7	+ 1,6
Magnopyrol [®]	500*	512 ± 2	497 ± 1	- 2,9	- 0,6
Magnopyrol [®]	500 ⁺	520 ± 2	515 ± 1	- 1,0	+ 3,0

* valores em mg mL⁻¹ + valores em mg comprimido⁻¹

Er₁ FIA vs iodimetria Er₂ FIA vs rotulado

Portanto, o sistema por injeção em fluxo desenvolvido permitiu a geração de íons triiodeto com obtenção de uma linha base estável e a determinação quantitativa da dipirona em produtos farmacêuticos

com rapidez, simplicidade e economia de reagentes como vantagens quando comparado com a iodimetria.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Programa PIBIC/CNPq/UEPG pelas bolsas de Iniciação Científica concedidas a L. Penckowski e M. F. Sassá.

REFERÊNCIAS

- Korolkovas, A.; Burckhalter, J. H.; *Química Farmacêutica*, Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 1988, p.193.
- Farmacopéia Brasileira*, 3ª ed., Atheneu Ed.: São Paulo, 1977.
- Vassileva, A. P.; *Mikrochim. Acta* **1976**, 3-4, 247.
- Diab, A. H.; *Pharmazie* **1977**, 32, 226.
- Dinc, E.; Onur, F.; *Anal. Chim. Acta* **1998**, 359, 93.
- Sistovaris, N.; Pola, W.; Wolhoff, H.; *J. Chromatogr.* **1983**, 274, 289.
- Abounassif, M. A.; Gad-Kariem, E. A.; Wahbi, A. M.; *Farmaco* **1990**, 45, 465.
- Carretero, I.; Vadillo, J. M.; Laserna, J. J.; *Analyst* **1995**, 120, 1729.
- Martínez-Calatayud, J.; *Flow Injection Analysis of Pharmaceuticals*, Taylor & Francis: Hants, 1996, p.120.
- Pérez Ruiz, T.; Martínez, L. C.; Tomás, V. J.; *Pharm. Biomed. Anal.* **1994**, 12, 1109.
- Bautista, J. A. G.; Zamora, L. L.; Mateo, J. V. G.; Martínez-Calatayud, J. M.; *Anal. Lett.* **1996**, 29, 2667.
- Hernández-Méndez, J.; Mateos, A. A.; Parra, A.; Maria, G. C.; *Anal. Chim. Acta* **1986**, 184, 243.
- Harris, D. C.; *Quantitative Chemical Analysis*, 3rd ed., W. H. Freeman and Company: New York, 1991, p. 411.