

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

JÉSSICA DA SILVA PREVITAL

**DESENVOLVIMENTO DE PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE
CLOTRIMAZOL E DICLOFENACO UTILIZANDO ESPECTROFOTOMETRIA NA REGIÃO
ULTRAVIOLETA**

Orientador: Dr. Heberth Juliano Vieira

DOURADOS/MS

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

JÉSSICA DA SILVA PREVITAL

**DESENVOLVIMENTO DE PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE
CLOTRIMAZOL E DICLOFENACO UTILIZANDO ESPECTROFOTOMETRIA NA REGIÃO
ULTRAVIOLETA**

Orientador: Dr. Heberth Juliano Vieira

Dissertação de Mestrado submetida ao
Programa de Pós-graduação em
Química, como um dos requisitos
necessários para a obtenção do título de
mestre em Química, na área de
concentração: **Metodologias Analíticas.**

DOURADOS/MS

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da UFGD, Dourados, MS, Brasil

P944d Prevital, Jéssica da Silva.
Desenvolvimento de procedimentos analíticos para
determinação de clotrimazol e diclofenaco utilizando
espectrofotometria na região ultravioleta / Jéssica da
Silva Prevital – Dourados, MS : UFGD, 2014.
43 f.

Orientador: Dr. Heberth Juliano Vieira.
Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade
Federal da Grande Dourados.

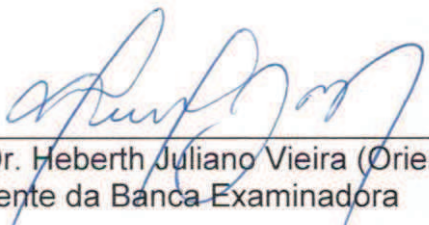
1. Química analítica. 2. Fármacos – Produção. 3.
Clotrimazol e diclofenaco. I. Vieira, Heberth Juliano. II.
Título.

CDD: 543

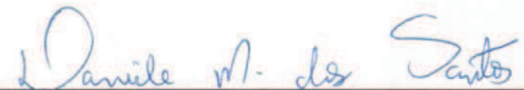


Termo de Aprovação

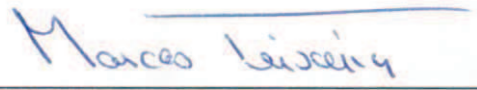
Após a apresentação, arguição e apreciação pela banca examinadora foi emitido o parecer APROVADO, para a dissertação intitulada: "Desenvolvimento de Procedimentos Analíticos para Determinação de Clotrimazol e Diclofenaco Utilizando Espectrofotometria na Região Ultravioleta", de autoria de Jessica da Silva Prevital, apresentada ao Programa de Mestrado em Química da Universidade Federal da Grande Dourados.



Prof. Dr. Heberth Juliano Vieira (Orientador-UFGD)
Presidente da Banca Examinadora



Profª. Drª. Daniele Mignolo dos Santos
Membro Examinador (UFGD)



Prof. Dr. Marcos Fernando de Souza Teixeira
Membro Examinador (UNESP)

Dourados/MS, 11 de abril de 2014

Dedico este trabalho,

À minha filha Maria Clara;

À minha mãe Izaura;

Ao meu pai Joaquim;

E aos meus familiares pelo apoio em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por sempre iluminar meu caminho e ser meu refúgio e fortaleza nos momentos mais difíceis.

À minha filha Maria Clara, que inocentemente me motivava a não desistir.

À minha mãe, Izaura pelo apoio durante todo o curso.

Ao meu pai, Joaquim pela confiança.

À minha irmã Rosa, aos meus sobrinhos Luis Felipe e Maria Fernanda, minhas amigas Claudineia, Adriana, Emislaine, Julia e Jamie pelo incentivo.

À mamãe, à Rosa, à Maria Fernanda, ao Luis Felipe e ao João, pelos cuidados prestados à Maria Clara para que eu me dedicasse integralmente à realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Heberth Juliano Vieira, pela orientação, incentivo, compreensão, confiança e paciência... muita paciência...durante todo o desenvolvimento deste trabalho.

Ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Grande Dourados pela oportunidade da realização deste trabalho.

A todos os professores do programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Grande Dourados, que contribuíram direta ou indiretamente para minha formação.

Á Claudia secretária do PPG-Química pela atenção, incentivo e presteza nesses anos.

Aos amigos do LECA: Cássia, Geny, Herbert Lee, Ariane pelo auxílio e companheirismo.

Á Lis Regiane, Vanessa, Fabiano, Robson, Cícera pelo incentivo.

A todos que de alguma forma colaboraram para a execução deste trabalho.

Sem a contribuição de vocês este trabalho não seria concluído.

Muito obrigada!

*“... todos querem viver no topo da montanha,
mas toda felicidade e crescimento ocorrem
quando você está a escalando...”*

(William Shakespeare)

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Procedimentos descritos para a determinação de clotrimazol em produtos farmacêuticos.	10
Tabela 2. Procedimentos descritos para a determinação de diclofenaco em produtos farmacêuticos	11
Tabela 3. Procedimentos descritos para a determinação de diclofenaco em produtos farmacêuticos (continuação).....	12
Tabela 4. Equações das curvas analíticas obtidas com o procedimento espectrofotométrico proposto para o clotrimazol	21
Tabela 5. Parâmetros de confiabilidade analítica do procedimento para a determinação do clotrimazol em creme.....	22
Tabela 6. Estudo da recuperação de clotrimazol nas amostras de creme.....	23
Tabela 7. Coeficiente de absorvidade molar obtidos no estudo do efeito do solvente.....	27
Tabela 8. Equações das curvas analíticas obtidas dos procedimentos para determinação de diclofenaco de sódio.....	28
Tabela 9. Parâmetros de confiabilidade analítica do procedimento para a determinação de diclofenaco de sódio em comprimidos	30
Tabela 10. Estudo de recuperação de diclofenaco de sódio nas amostras avaliadas	31
Tabela 11. Estudo de recuperação de diclofenaco nas amostras avaliadas contendo princípios ativos concomitantes	32
Tabela 12. Recuperações obtidas para a amostra 5 empregando a espectrofotometria convencional (ordem zero) e espectrofotometria derivativa (primeira ordem).....	34
Tabela 13 Recuperação das amostras estudadas utilizando-se a espectrofotometria derivativa de primeira ordem	35

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Espectros de ordem zero, primeira derivada, segunda derivada, terceira derivada, quarta derivada. Ponto de anulação da primeira, segunda, terceira e quarta derivada. Ponto de inflexão do espectro de absorção de ordem zero e de suas respectivas derivadas.....	5
Figura 1. Estrutura do diclofenaco de sódio.....	6
Figura 2 Estrutura do clotrimazol	7
Figura 3. Espectros de absorção das soluções padrão de clotrimazol. (a) 0 mol L^{-1} , (b) $2,95 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, (c) $1,18 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, (d) $1,47 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, (e) $1,77 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, (f) $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, (g) $2,95 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, (h) $5,9 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	19
Figura 4. Curva analítica para a determinação de clotrimazol em formulações farmacêuticas. $\lambda=260 \text{ nm}$ (n=3).	20
Figura 5. Espectro de absorção do diclofenaco de sódio (a) $5,11 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, (b) $1,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, (c) $3,40 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, (d) $1,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ diluído em solução de NaOH $0,01 \text{ mol L}^{-1}$	26
Figura 6. Espectro de absorção do diclofenaco de sódio (a) $5,11 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, (b) $1,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, (c) $3,40 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, (d) $1,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ diluído em etanol.....	26
Figura 7. Espectros de absorção das soluções padrão de diclofenaco de sódio (n=2). (a) 0 mol L^{-1} , (b) $3,92 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, (c) $1,569 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, (d) $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, (e) $2,35 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, (f) $3,13 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, (g) $3,92 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	28
Figura 8. Curva analítica para a determinação de diclofenaco de sódio em formulações farmacêuticas. $\lambda=275 \text{ nm}$ (n=3).	29
Figura 9. Espectro de absorção da Amostra 05 contendo DCF e princípios ativos como interferentes (n=3). (a) etanol, (b) solução de amostra; (c) $9,80 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; (d) $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; (e) $2,94 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	33
Figura 10. Primeira derivada dos espectros de absorção do estudo de recuperação da amostra 05 de diclofenaco de sódio.....	34

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Fundamentos da espectrofotometria	1
1.2	Diclofenaco de sódio (DCF)	6
1.3	Clotrimazol (CLT)	7
1.4	Procedimentos analíticos para a determinação de clotrimazol e diclofenaco de sódio em amostras farmacêuticas	8
2	OBJETIVOS	13
2.1	Objetivo geral	13
2.2	Objetivos específicos	13
3	PARTE EXPERIMENTAL	14
3.1	Materiais e reagentes	14
3.2	Instrumentação	16
3.3	Preparo de amostra	17
3.3.1	Preparo de amostra contendo clotrimazol	17
3.3.2	Preparo das amostras contendo diclofenaco de sódio	17
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	18
4.1	Desenvolvimento de um procedimento espectrofotométrico para a determinação de clotrimazol em creme	18
4.1.1	Robustez	20
4.1.2	Estudo da recuperação de clotrimazol nas amostras de creme	23
4.2	Desenvolvimento de um procedimento para determinação de diclofenaco de sódio em comprimidos	25
4.2.1	Efeito do solvente sobre o espectro de absorção	25
4.3	Curva analítica para determinação de diclofenaco de sódio em amostras de comprimidos	27
4.3.1	Estudo da recuperação de diclofenaco em comprimidos utilizando o procedimento proposto	30
5	CONCLUSÕES	41
6	REFERÊNCIAS	42

RESUMO

Os procedimentos analíticos que empregam a espectroscopia molecular baseiam-se na medida da radiação absorvida ou produzida pela substância de interesse. Os métodos espectroscópicos são amplamente utilizados para determinação qualitativa e quantitativa de diferentes analitos em diversos tipos de amostras. A espectrofotometria de absorção no ultravioleta-visível (UV-vis) é uma técnica analítica reconhecida por apresentar vantagens como rapidez, baixo custo operacional e produção de resultados confiáveis e de simples interpretação. Neste trabalho propomos a otimização de procedimentos analíticos para a determinação de clotrimazol e diclofenaco em amostras farmacêuticas. Depois de otimizado o solvente, obteve-se uma curva analítica com faixa linear de concentração de clotrimazol variando entre $2,95 \times 10^{-5}$ a $5,90 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. Um limite de detecção de $5,33 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ e limite de quantificação de $1,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ foram obtidos. As recuperações do clotrimazol nas amostras analisadas variaram entre 91,8 A 100%. Para a determinação de diclofenaco, o procedimento apresentou uma curva analítica com faixa de concentração linear variando entre $3,9 \times 10^{-6}$ a $3,9 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. Um limite de detecção de $1,60 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ foi obtido. Um limite de quantificação de $5,33 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ foi obtidos nas condições otimizadas. As recuperações de diclofenaco nas amostras analisadas foram superiores a 115%. O tratamento dos espectros obtidos (espectrofotometria derivativa) possibilitou o emprego do procedimento, pois possibilitaram recuperações de diclofenaco entre 97,2 a 106%.

Palavras chaves: clotrimazol, diclofenaco, espectrofotometria, cremes, comprimidos.

ABSTRACT

Analytical procedures employing molecular spectroscopy are based on the measurement of radiation absorbed or generated by the substance of interest. Spectroscopic methods are widely used for qualitative and quantitative determination of different analytes in different samples. The molecular absorption spectrophotometry in the ultraviolet-visible (UV-vis) is an analytical method recognized for its advantages such as speed, low operating costs and produce reliable results and simple interpretation. In this work the optimization of analytical methods for the determination of clotrimazole and sodium diclofenac in pharmaceutical samples. After the optimized solvent afforded an analytical curve with a linear range of concentration ranging between clotrimazole 2.95×10^{-5} to 5.90×10^{-4} mol L⁻¹. A detection limit 5.33×10^{-7} mol L⁻¹ and quantitation limit of 1.00×10^{-5} mol L⁻¹ were obtained. The recoveries of clotrimazole in the studied samples ranged from 91.8 to 100%. For the determination of sodium diclofenac, the procedure presented an analytical curve with a linear range of concentration between 3.9×10^{-6} to 3.9×10^{-5} mol L⁻¹. A detection limit of 1.60×10^{-7} mol L⁻¹ was obtained. A limit of quantification of 5.33×10^{-7} mol L⁻¹ was obtained in optimized conditions. The recoveries of diclofenac in the samples were higher than 115 %. The treatment of the spectra (derivative spectrophotometry) allowed the use of the procedure, enabling us diclofenac recoveries between 97.2 to 106 %.

Keywords: clotrimazole, diclofenac, spectrophotometry, cream, tablets.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Fundamentos da espectrofotometria

Qualquer técnica que utilize luz para medir concentrações de espécies químicas pode ser chamada de espectrofotometria[1]. O princípio da técnica começou com a observação do espectro solar feita por Sir Isaac Newton em 1672. No experimento de Newton, os raios do sol passaram por uma pequena abertura para dentro de uma sala escura, na qual encontraram um prisma e se dispersaram nas cores do espectro[2]. Entre 1859 e 1860, juntamente com Bunsen, Kirchhoff observou que diferentes elementos poderiam produzir diferentes cores de chamas e gerar espectros que exibiam diferentes bandas coloridas ou linhas[2]. Ambos são considerados os descobridores do uso da espectroscopia para análise química incluindo para a descoberta de novos elementos.

Os métodos espectroscópicos de análises baseiam-se na medida da radiação emitida ou absorvida pela espécie de interesse, sendo estes classificados de acordo com a região espectral envolvida na medida. As interações da luz com a matéria são amplamente empregadas para obter informações sobre uma amostra. De alguma forma, o analito é geralmente excitado aplicando-se energia na forma de calor, energia elétrica, luz, partículas ou por uma reação química[2]. A excitação dos elétrons provocada pelo estímulo aplicado sob a amostra pode ou não proporcionar a emissão de luz através de transições eletrônicas. A espectroscopia eletrônica (UV-Vis) baseia-se em transições eletrônicas intra-atômicas ou moleculares, responsáveis pela absorção de radiação luminosa na região do ultravioleta (200-400 nm) e no visível (400-800 nm)[1].

Dentre as técnicas analíticas que utilizam a interação da matéria com a luz destaca-se a técnica espectrofotométrica na região do ultravioleta (UV), amplamente aplicada na quantificação de princípios ativos em diversos produtos farmacêuticos, uma vez que cumpre requisitos indispensáveis na rotina laboratorial como rapidez, baixo custo operacional e elevada confiabilidade de resultados[3]. Os procedimentos envolvem medidas diretas de espécies que absorvem radiação, medidas após derivação química e acoplamento a diversas técnicas ou processos, como cromatografia, eletroforese e análises em fluxo[4]. Os procedimentos espectrofotométricos são empregados para determinar a concentração das substâncias em condições bem definidas, por meio da razão entre a radiação incidente e a radiação transmitida. A radiação absorvida pela amostra é comparada com a radiação absorvida por uma substância com concentração conhecida. As determinações espectrofotométricas estão fundamentadas na lei de Lambert-Beer. Para medidas de absorção de radiação em determinado comprimento de onda, tem-se: $A = \log(I_0/I) = \epsilon \times b \times c$, onde A é a absorbância, I_0 é a intensidade da radiação monocromática que incide na amostra e I é a intensidade da radiação que emerge da amostra. A absorvidade molar (ϵ) é uma grandeza característica da espécie absorvente, cuja magnitude depende do comprimento de onda da radiação incidente e do tipo de solvente empregado na obtenção da medida. O termo c é a concentração da espécie absorvente e b, a distância percorrida pelo feixe através da amostra[4].

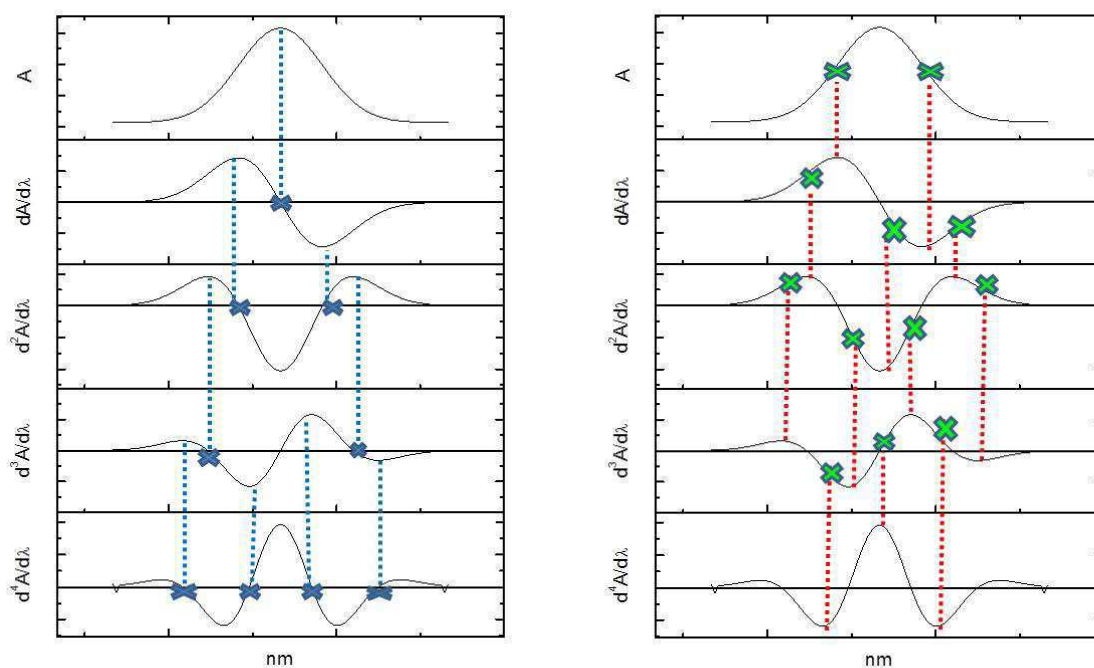
Um espectrômetro óptico é um instrumento que possui um sistema óptico que dispersa a radiação eletromagnética incidente originada de uma fonte, e permite a medida da quantidade de radiação transmitida em determinados comprimentos de onda da faixa espectral selecionados. Um fotômetro é um equipamento que mede a

intensidade da radiação transmitida ou uma função desta quantidade. Quando combinados em um espectrofotômetro, o espectrômetro e o fotômetro produzem um sinal que corresponde à diferença entre a radiação transmitida por um material de referência e a radiação transmitida por uma amostra em comprimentos de onda selecionados[5]. Muitos instrumentos espectroscópicos para uso nas regiões do UV/visível e IV apresentam cinco componentes: (1) uma fonte estável de energia radiante; (2) um seletor de comprimento de onda que isola uma região limitada do espectro para a medida; (3) um ou mais recipientes para a amostra; (4) um detector de radiação transmitida, o qual converte a energia radiante para um sinal elétrico mensurável; e (5) uma unidade de processamento e de leitura do sinal, geralmente constituída por um circuito eletrônico e, nos instrumentos modernos, por um computador[6]. Os espectrofotômetros podem ser de feixe simples ou de feixe duplo. Em um espectrofotômetro de feixe simples a radiação proveniente de uma fonte é separada em pequenos intervalos de comprimento de onda por um monocromador[1], passando através de uma amostra e sendo medida através de um detector. Neste tipo de equipamento a amostra e a referência têm que ser colocadas alternadamente no caminho do único feixe de radiação[1]. Consequentemente, este instrumento não é adequado para medidas que exigem o controle de tempo. No entanto, em um espectrofotômetro de feixe duplo, em que a radiação, direcionada por um espelho rotatório (o alternador de feixe), passa alternadamente através da amostra e da referência[1] medindo a energia radiante e a intensidade da energia radiante respectivamente. Essa comparação frequente permite a correção automática para as variações na intensidade da fonte e na resposta do detector com o tempo e com o valor do comprimento de onda.

Um dos problemas relacionados à determinação simultânea de substâncias utilizando a espectrofotometria Uv-vis é sobreposição das bandas (*overlapping*). Este fenômeno ocorre quando se obtém o espectro de absorção de uma mistura de substâncias que apresentam absorção em regiões do espectro muito próximas. Este problema é encontrado frequentemente na determinação de princípios ativos em produtos farmacêuticos. Problemas de sobreposição espectrais de mais de um componente requerem metodologias alternativas e simultâneas a espectrofotometria UV-Vis, como por exemplo, a espectrofotometria de derivadas.

A espectrofotometria derivativa é uma ferramenta analítica que auxilia na resolução de problemas de sobreposição de espectros de absorção por meio da derivatização dos espectros de ordem zero, permitindo resolver diferentes espectros sobrepostos contornando interferências de sinais sobrepostos[7]. A derivatização do espectro de ordem zero não aumenta o conteúdo de referência. Os componentes são melhor individualizados por meio da supressão de bandas muito largas, realce de bandas mais estreitas e melhor resolução de pequenas características espectrais (ombros)[7]. A razão entre a variação da absorbância (dA) versus variação do comprimento de onda ($d\lambda$) representa a derivada de primeira ordem. O ponto de anulação da derivada de primeira ordem é observado no comprimento de onda onde ocorre a máxima absorbância do espectro de ordem zero. No entanto, o ponto de inflexão da banda de absorção do espectro de ordem zero pode ser obtido através do ponto máximo e mínimo da variação da absorbância nos comprimentos de ondas das bandas positiva e negativa da primeira derivada como demonstrado nas figuras D e DD.

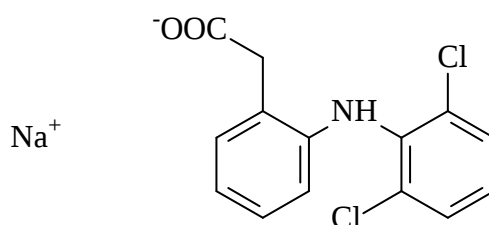
Figura 1. Espectros de ordem zero, primeira derivada, segunda derivada, terceira derivada, quarta derivada. Ponto de anulação da primeira, segunda, terceira e quarta derivada. Ponto de inflexão do espectro de absorção de ordem zero e de suas respectivas derivadas.



1.2 Diclofenaco de sódio (DCF)

O diclofenaco, 2-[(2,6-diclorofenil)amino]benzenoacetato de sódio possui fórmula molecular $C_{14}H_{10}Cl_2NaNO_2$ como apresentado na Figura 2 e massa molecular de $318,13 \text{ g mol}^{-1}$.

Figura 2. Estrutura do diclofenaco de sódio.



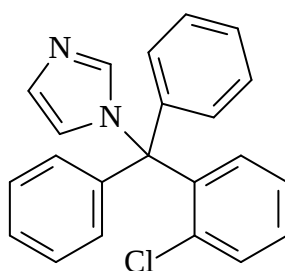
É um pó cristalino branco ou levemente amarelado, ligeiramente higroscópico com intervalo de fusão entre 295 a 300°C. Pode ser identificado através de testes utilizando espectro de absorção no infravermelho, espectro de absorção no ultravioleta na faixa de 200 a 350 nm, de solução a 0,001% (p/v) em hidróxido de potássio 0,1 mol L⁻¹, exibindo máximos em 218 e 275 nm, e também através de cromatografia em camada delgada. Segundo Santos et al. [8], o diclofenaco está entre os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINES) mais utilizados no mundo. É um fármaco instável em meio ácido, tendo seu uso limitado pela alta incidência de efeitos indesejáveis sobre o trato gastrointestinal. O diclofenaco de sódio é um anti-inflamatório não-esteróide, pertencente a um diversificado grupo de fármacos que apresentam ação analgésica, anti-inflamatória e antitérmica. Sua ação está baseada na inibição da atividade de subtipos da ciclo-oxigenase, impedindo

assim a síntese de eicosanoides pela via metabólica da cascata do ácido araquidônico. As eicosanoides exercem um complexo controle sobre diversos sistemas do organismo humano, especialmente na inflamação, imunidade, e como mensageiros do sistema nervoso central. É uma substância indicada no tratamento de dor reumática das articulações (atrite), dor nas costas, ombro congelado, cotovelo de tenista e outros tipos de reumatismo, crises de gota, entorses, distensões e outras lesões, dor e inchaço pós-cirúrgico, condições inflamatórias dolorosas em ginecologia, incluindo períodos menstruais, infecções de ouvido, nariz e garganta.

1.3 Clotrimazol (CLT)

O clotrimazol, 1-(o-cloro- α,α -difenilbenzil)imidazol, é um derivado de imidazol e apresenta fórmula química $C_{22}H_{17}ClN_2$. Sua fórmula estrutural é apresentada na Figura 3 e seu ponto de fusão ocorre entre 147-149 °C.

Figura 3 Estrutura do clotrimazol



O clotrimazol é um fármaco indicado no tratamento de infecções fúngicas (micoses) da pele causadas por dermatófitos (fungos que em vida parasitária vivem à custa da queratina da pele, pêlos e unhas), leveduras e outros microorganismos, como *Malassezia furfu* e infecções da pele causadas por *Corynebacterium*

minutissimum. Estas infecções podem ocorrer como: micoses dos pés (pé de atleta ou frieira), entre os dedos das mãos ou dos pés, no sulco da base da unha (paroníquia), também em combinação com micoses das unhas; micoses da pele e suas pregas, candidíase superficial, pitíriase versicolor (pano branco ou micose de praia), infecções com *Corynebacterium minutissimum* (eritrasma), dermatite seborréica com envolvimento dos microorganismos citados; infecções dos órgãos genitais externos da mulher e áreas próximas causadas por leveduras (vulvite por *Candida*) e inflamações da glândula e prepúcio do pênis, causadas por leveduras (balanite por *Candida*)[8].

1.4 Procedimentos analíticos para a determinação de clotrimazol e diclofenaco de sódio em amostras farmacêuticas

Devido a grande quantidade e ampla utilização destas substâncias em diferentes produtos farmacêuticos são descritos na literatura diversos procedimentos analíticos para a determinação deste analitos nestas amostras. As principais metodologias analíticas são a cromatografia (líquida e gasosa) e métodos eletroanalíticos.

A 5ª edição da Farmacopéia Brasileira apresenta os procedimentos validados para doseamento de diversos fármacos[9]. Porém, procedimentos de doseamento do clotrimazol em formulações farmacêuticas não estão descritos neste documento. A Farmacopéia Japonesa descreve o procedimento para o doseamento do clotrimazol utilizando a titulação de uma solução de amostra dissolvida em ácido acético, com uma solução padronizada de ácido perclórico e ponto final detectado visualmente[10].

Os procedimentos de doseamento referentes ao diclofenaco são descritos na Farmacopéia Brasileira[9] e na Farmacopéia Japonesa[10]. Segundo a Farmacopéia Brasileira, a matéria prima do diclofenaco de potássio pode ser doseada empregando titulação em meio não aquoso (ácido acético glacial) e titulada com ácido perclórico. A cromatografia líquida de alta eficiência também é descrita para determinação de diclofenaco. Para este procedimento a fase móvel utilizada é uma mistura de Tampão fosfato pH 2,5 e metanol (30:70) e o diluente uma mistura de água e metanol (30:70). Neste caso, o cromatógrafo deve estar acoplado a um detector ultravioleta. Em comprimidos, o diclofenaco de potássio pode ser determinado utilizando a espectrofotometria de absorção no ultravioleta e também através de cromatografia a líquido de alta eficiência acoplada a um detector ultravioleta conforme foi descrito para o doseamento da matéria prima.

Segundo a Farmacopéia Japonesa[10], o diclofenaco de sódio pode ser determinado empregando-se a precipitação do diclofenaco em meio ácido seguida da extração em clorofórmio. A solução resultante é titulada com uma solução etanólica de KOH seguida da detecção utilizando um eletrodo de vidro.

Na Tabela 1 estão descritos procedimentos analíticos para a determinação de clotrimazol em diferentes produtos farmacêuticos (creme, comprimidos, solução e spray). Na Tabela 2 estão descritos alguns procedimentos para a determinação de diclofenaco de sódio em amostras farmacêuticas. Em ambos os casos, verifica-se procedimentos analíticos que necessitam de preparo de amostras ou derivatização do analito.

Tabela 1. Procedimentos descritos para a determinação de clotrimazol em produtos farmacêuticos

Método	Tipo de amostras	Faixa linear	Recuperação	Limite de detecção	Preparo de Amostras	Ref.
CLAE CCD - densitométricos	Fármaco	$6,75 \times 10^{-5}$ a $2,53 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹	99,83 % 99,55%	$2,89 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ para CLAE	- Solubilização com solvente extrator da fase m - Filtração	[11]
CLAE com detecção UV	Fármaco	n.e.	99,12%	n.e.	- Solubilização em acetonitrila	[12]
Cromatografia eletrocinética micelar (CEM) e CLAE	Fármaco	$1,16 \times 10^{-3}$ a $7,54 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹	98,3% para CEM 102,8% para CLAE	$1,45 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹	- Solubilização em metanol - Centrifugação - Filtração do sobrenadante	[13]
Polarografia com pulso diferencial	Fármaco	$2,89 \times 10^{-5}$ a $2,00 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹	96,3 a 104%	$7,54 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹	- Extração com solvente orgânico - Evaporação do solvente orgânico - Diluição em metanol - Centrifugação	[14]
Espectrofotométrico	Fármaco	$1,45 \times 10^{-3}$ a $2,89 \times 10^{-2}$ mol L ⁻¹	> 99,5%	n.e.	n.e.	[15]

CLAE = Cromatografia a líquido de alta eficiência; CCD = Cromatografia em camada delgada; CEM = Cromatografia eletrocinética micelar; n.e. = Não encontrado; Ref. = Referência.

Tabela 2. Procedimentos descritos para a determinação de diclofenaco em produtos farmacêuticos

Método	Tipo de amostras	Faixa linear	Recuperação	Limite de detecção	Preparo de Amostras	Ref.
Espectrofotometria UV (PLS) CLAE	Fármaco	4×10^{-6} a 2×10^{-5} mol L ⁻¹	> 95%	$0,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ 4×10^{-7} mol.L ⁻¹	- Solubilização em metanol/água - Banho de ultrasom	[16]
CL-ESI-Detector de massa CL CLAE Espectrômetro de massa	Efluente de esgoto	$4,39 \times 10^{-6}$ a $1,11 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹	62 a 81 %	$6,08 \times 10^{-8}$ mol L ⁻¹	- Filtração	[17]
Espectrofotometria UV-Vis	Fármaco	$3,38 \times 10^{-6}$ a $1,01 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹	100%	$1,55 \times 10^{-4}$ mol.L ⁻¹	- Pulverização - Solubilização em água - Filtração	[18]
Espectroscopia de fluorescência RMN de ¹ H	Fármaco	0 a $1,69 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹	> 99%	$2,36 \times 10^{-7}$ mol L ⁻¹ $1,01 \times 10^{-7}$ mol L ⁻¹	n.e.	[18]
Método potenciométrico com eletrodo de íon seletivo Adição de padrão CLAE	Fármaco	$5,0 \times 10^{-5}$ a $1,0 \times 10^{-2}$ mol L ⁻¹	> 96,8%	$3,2 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹	- Pulverização - Filtração - Solubilização com água deionizada	[19]

Tabela 3. Procedimentos descritos para a determinação de diclofenaco em produtos farmacêuticos (continuação)

Método	Tipo de amostras	Faixa linear	Recuperação	Limite de detecção	Preparo de Amostras	Ref.
Método potenciométrico com eletrodo de membrana íon seletivo Adição de padrão Titulação potenciométrica	Fármaco	$5,0 \times 10^{-5}$ a $5,0 \times 10^{-2}$ mol L ⁻¹	~100%	$3,2 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹	- Pulverização - Solubilização em água - Ajuste da força iônica com KCl - Filtração	[20]
Fotometria de refletância difusa	Fármaco	$3,0 \times 10^{-3}$ a $5,5 \times 10^{-2}$ mol L ⁻¹		2×10^{-3} mol L ⁻¹	- Pulverização - Solubilização em água - Aquecimento a 85 °C - Agitação por 1 minuto - Filtração - Solubilização em água	[21]
Espectrofotometria Espectrofotometria derivativa CLAE	Fármaco	$3,38 \times 10^{-3}$ a $6,08 \times 10^{-2}$ mol L ⁻¹	n.e..	$2,36 \times 10^{-3}$ mol.L ¹	n.e.	[22]

CLAE = Cromatografia a líquido de alta eficiência; Ref. = Referência.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver procedimentos analíticos para determinação de diclofenaco de sódio e de clotrimazol em amostras farmacêuticas.

2.2 Objetivos específicos

Este trabalho tem como objetivos específicos:

- Analisar o efeito de diferentes solventes sobre o espectro de absorção do diclofenaco e clotrimazol;
- Validar os procedimentos analíticos propostos.
- Avaliar o emprego da espectrofotometria derivativa para eliminação das interferências espectrais.

|

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Materiais e reagentes

Os reagentes empregados foram de grau analítico. A água empregada no decorrer do estudo foi água destilada. O diclofenaco de sódio, clotrimazol e hidróxido de sódio foram obtidos da empresa Sigma-Aldrich apresentando 98% de pureza. O etanol utilizado como solvente no preparo das soluções e utilizado como branco nas análises foi obtido da VETEC. Os produtos farmacêuticos avaliados neste trabalho foram obtidos no comércio local na cidade de Dourados-MS.

As soluções estoque de DCF $3,92 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e CLT $2,95 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foram obtidas em etanol.

Amostras de quatro laboratórios diferentes contendo CLT foram avaliadas nos estudos de validação do procedimento, sendo todas na forma de creme contendo 0,1 g de CLT por 100 g do produto farmacêutico. A composição de cada produto farmacêutico é dada a seguir:

- Amostra 01: monoestearato de sorbitano, polissorbato 80, palmitato de cetila, álcool cetoestearílico, octildodecanol e álcool benzílico.
- Amostra 02: glicerina, vaselina líquida, cera emulsificante, fenoxietanol, propilparabeno, metilparabeno, etilparabeno, butilparabeno, óleo mineral, álcool de lanolina, álcool de lanolina acetilado e álcool cetoestearílico.

- Amostra 03: álcool benzílico, palmitato de cetila, álcool cetoestearílico, polissorbato, octildodecanol e monoestearato de sorbitano.
- Amostra 04: álcool benzílico, álcool cetoestearílico, polissorbato 60, octildodecanol, monoestearato de sorbitano, palmitato de cetila e água.

Os produtos farmacêuticos contendo DCF apresentavam-se na forma de comprimidos. As concentrações de cada produto foram de 50 mg de DCF para cada grama do produto farmacêutico. Seis amostras de diferentes laboratórios foram selecionadas. Dentre essas seis amostras, duas delas (amostra 05 e 06) continham, além de DCF, outros princípios ativos como cafeína, carisoprodol, paracetamol, além dos excipientes comumente encontrados nas formulações farmacêuticas.

- Amostra 01: talco, lactose monoidratada, fosfato de cálcio dibásico, celulose microcristalina, amidoglicolato de sódio, estearato de magnésio, macrogol, corante alumínio laca amarelo crepúsculo 6, dióxido de titânio, polímero do ácido metacrílico, óxido de ferro vermelho, álcool isopropílico, acetona.
- Amostra 02: lactose monoidratada, amido de milho, fosfato bicálcico, estearato de magnésio, copolímero do ácido metacrílico tipo C, dióxido de titânio e corante vermelho nº 40.
- Amostra 03: dióxido de silício, celulose microcristalina, lactose, estearato de magnésio, amido de milho, povidona, macrogol, polissorbato 80, talco, óxido férrico amarelo e óxido férrico vermelho,

amidoglicolato de sódio, polímero de metacrilato, dióxido de titânio e hipromelose.

- Amostra 04: celulose microcristalina, estearato de magnésio, corante vermelho FDC n° 3, laca de alumínio, corante vermelho ponceau 4R, dióxido de silício, fosfato de cálcio dibásico diidratado, eudragit® (copolímero catiônico baseado em dimetilaminoetil metacrilato, butil metacrilato, e metil metacrilato com proporção de 2:1:1), dióxido de titânio, polietilenoglicol e talco.
- Amostra 05: amido, celulose microcristalina, estearato de magnésio, crospovidona, corante amarelo FDC n° 6, laca de alumínio, dióxido de silício e fosfato de cálcio dibásico.
- Amostra 06: excipientes como celulose microcristalina, amidoglicolato de sódio, povidona, corante amarelo FDC n° 06, croscamelose sódica, dióxido de silício e estearato de magnésio.

3.2 Instrumentação

O banho de ultrassom (Quimis®, modelo Q335D) utilizado para o preparo das amostras. Os espectros de absorção foram obtidos utilizando um espectrofotômetro de Absorção Molecular de feixe simples UV-Vis Cary Varian (modelo 50 CONC), com cubeta de quartzo de 3,5 mL (caminho óptico 10 mm). Os espectros foram suavizados utilizando o software OriginPro 8.5 com o método Adjacent-Averaging e 24 pontos de janela.

3.3 Preparo de amostra

Os procedimentos descritos na literatura em [9, 10, 11, 12] para o preparo de amostras do clotrimazol incluem a pesagem de certa quantidade de creme e a solubilização em metanol ou acetonitrila.

Segundo a Farmacopéia Brasileira, 5ª edição, os comprimidos de DCF devem ser pesados, pulverizados, solubilizados em ácido acético e metanol e deixados em ultrassom por 15 minutos.

3.3.1 Preparo de amostra contendo clotrimazol

Todos os medicamentos contendo CLT analisados apresentavam uma proporção de 1 g de clotrimazol para cada 100 g de medicamento. Uma massa de creme foi solubilizada em etanol e diluída com o mesmo solvente em um balão volumétrico de 100 mL.

3.3.2 Preparo das amostras contendo diclofenaco de sódio

As amostras de medicamentos contendo DCF encontravam-se em forma de comprimidos. Cada comprimido, continha 50 mg deste fármaco. Os comprimidos pesados foram macerados em almofariz com o auxílio de um pistilo. O conteúdo proveniente da maceração foi totalmente transferido para um béquer, solubilizado em etanol e transferido para um balão volumétrico de 50 mL. Após ajustar o volume, levou-se ao banho ultrassom por aproximadamente 15 minutos. A solução resultante repousou por uma noite e foi filtrada no dia seguinte com funil de vidro e papel filtro quantitativo em balão volumétrico de 50 mL.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

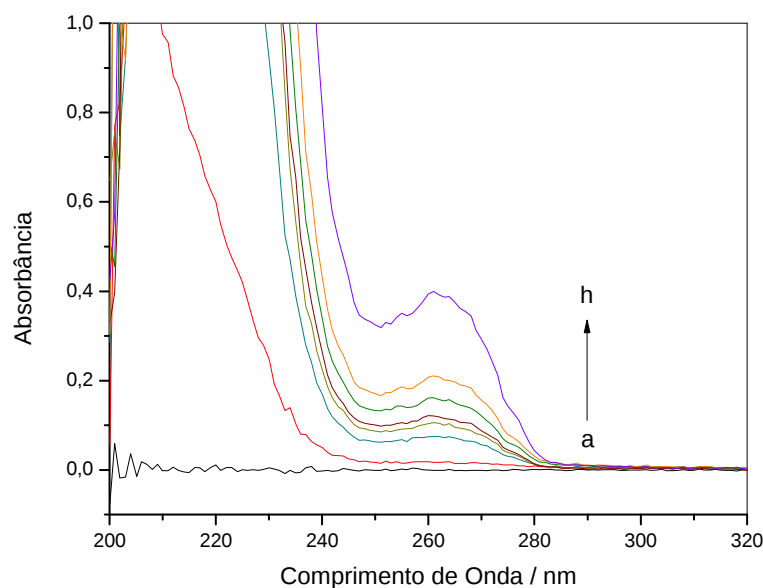
4.1 Desenvolvimento de um procedimento espectrofotométrico para a determinação de clotrimazol em creme

De acordo com a 5ª edição da Farmacopéia Brasileira[9], para a caracterização utilizando a espectrofotometria UV/VIS, o fármaco é dissolvido utilizando solvente apropriado. Muitos solventes são apropriados tais como água, alcoóis, éteres e soluções ácidas e alcalinas. Deve-se observar para que os solventes não absorvam radiação na região espectral que está sendo utilizada.

Segundo a Farmacopéia Japonesa[9] o clotrimazol é muito solúvel em diclorometano, solúvel em éter dietílico, solúvel em metanol e praticamente insolúvel em água. Ao longo deste trabalho o solvente utilizado foi o etanol por ser um solvente orgânico que apresenta menor toxicidade e menor volatilidade quando comparado aos demais solventes orgânicos descritos na literatura.

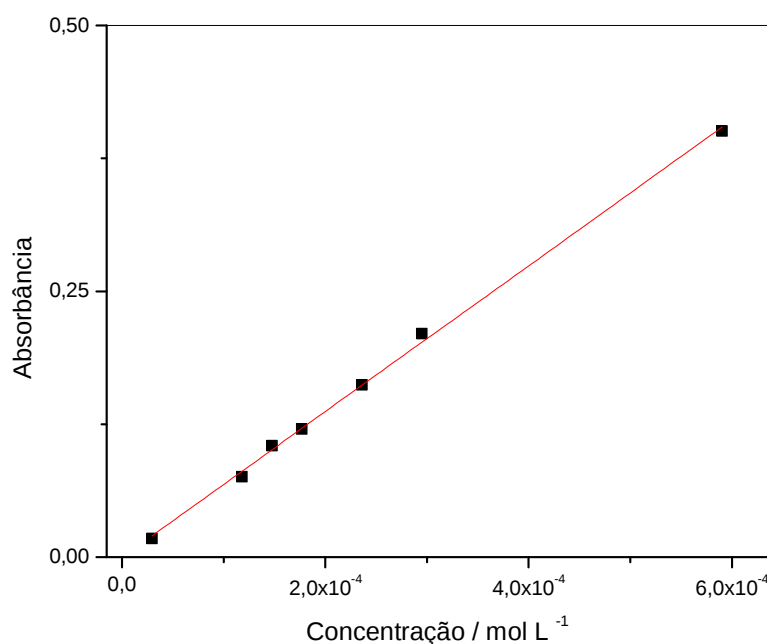
Inicialmente avaliou-se a solubilidade do clotrimazol em etanol, pois sua solubilidade em água é muito baixa. Na sequência, realizaram-se diluições sucessivas da solução estoque de clotrimazol utilizando etanol como solvente nas seguintes concentrações: $2,95 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $1,18 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $1,47 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $1,77 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $2,95 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $5,9 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Os espectros obtidos estão apresentados na Figura 4, onde se verifica um máximo de absorção no comprimento de onda de 260 nm que é proporcional ao aumento da concentração de clotrimazol.

Figura 4. Espectros de absorção das soluções padrão de clotrimazol. (a) 0 mol L^{-1} , (b) $2,95 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, (c) $1,18 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, (d) $1,47 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, (e) $1,77 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, (f) $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, (g) $2,95 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, (h) $5,9 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.



A partir dos espectros de absorção das soluções padrões foi obtida a curva analítica para a determinação de clotrimazol em formulações farmacêuticas. A curva analítica foi obtida empregando-se a absorbância no comprimento de onda de maior absorção. Os valores obtidos para cada solução foi empregado para a construção da curva analítica, apresentada na Figura 5. A curva analítica apresentou uma linearidade variando entre $2,95 \times 10^{-5}$ a $5,9 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, pode ser descrita com a equação de regressão linear $Y = 685,74 X + 0,00$ e seu coeficiente de correlação linear $(r) = 0,99$.

Figura 5. Curva analítica para a determinação de clotrimazol em formulações farmacêuticas. $\lambda=260$ nm (n=3).



4.1.1 Robustez

A robustez do procedimento proposto para a determinação de clotrimazol foi estudada avaliando-se as inclinações das curvas analíticas obtidas durante o estudo. Respeitou-se um intervalo de sete a vinte dias entre as análises para construção das curvas analíticas, com o objetivo de avaliar o coeficiente de variação (CV) das inclinações das regressões lineares entre os dias. Para analisar o coeficiente de variação das inclinações das regressões lineares no mesmo dia, respeitou-se um intervalo de 24 horas. As equações de regressão das curvas analíticas são apresentadas na Tabela 4. O coeficiente de variação das inclinações obtido foi de 3,5 % para as curvas analíticas para a determinação de clotrimazol.

Tabela 4. Equações das curvas analíticas obtidas com o procedimento espectrofotométrico proposto para o clotrimazol

Equação da curva analítica	Coefficiente de regressão / r
$Abs = 726,07 \times [CLT] + 0,001$	0,99
$Abs = 690,45 \times [CLT] + 0,004$	0,99
$Abs = 705,27 \times [CLT] + 0,00$	0,99
$Abs = 660,74 \times [CLT] + 0,00$	0,999
$Abs = 685,74 \times [CLT] + 0,00^{-4}$	0,999

[CLT] = concentração de clotrimazol.

Os valores calculados para os limites de detecção e de quantificação mostraram-se coerentes com o observado na construção das curvas analíticas para a determinação de CLT[23]. Um limite de detecção de $3,04 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ foi obtido nas condições otimizadas do procedimento proposto. Esses valores foram obtidos utilizando a razão entre 3 vezes o desvio padrão do branco (etanol) e a inclinação da curva analítica[23]. O procedimento proposto apresentou um limite de quantificação de $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. O limite de quantificação foi calculado pela razão entre 10 vezes o desvio padrão do sinal do branco (etanol) e a inclinação da curva analítica.

A precisão do procedimento proposto foi avaliada obtendo-se o espectro de absorção de 10 diferentes soluções padrão de CLT nas concentrações de $1,18 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (concentração baixa), $2,95 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (concentração média) e $5,90 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (concentração alta). Os coeficientes de variação das absorbâncias das soluções padrão de CLT foram de 3,10%, 2,65% e 4,11%, respectivamente. Este resultado indica que o procedimento apresenta precisão adequada para a determinação de CLT.

Os dados obtidos da faixa linear, do limite de detecção, limite de quantificação e repetibilidade estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5. Parâmetros de confiabilidade analítica do procedimento para a determinação do clotrimazol em creme

Parâmetro	Obtido
Faixa Linear / mol L ⁻¹	2,95x10 ⁻⁵ a 5,90x10 ⁻⁴
Equação da Curva Analítica	Abs = 685,74 × [CLT] + 0,00
Repetibilidade	3,10% / 1,18x10 ⁻⁴ mol L ⁻¹
	2,65% / 2,95x10 ⁻⁴ mol L ⁻¹
	4,11% / 5,90x10 ⁻⁴ mol L ⁻¹
Limite de Detecção / (3×σ _{branco} /inclinação)	3,04x10 ⁻⁶ mol L ⁻¹
Limite de Quantificação / (10×σ _{branco} /inclinação)	1,00x10 ⁻⁵ mol L ⁻¹

Abs = absorvância; [CLT] = concentração de clotrimazol; σ = desvio padrão.

4.1.2 Estudo da recuperação de clotrimazol nas amostras de creme

No teste de recuperação do analito, três concentrações diferentes de solução de referência de CLT são adicionadas a diferentes soluções de amostras contendo uma concentração de CLT $1,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e os resultados obtidos, descontados daqueles originalmente sem a adição da solução de referência, foram comparados. O valor da recuperação obtida é um indicativo da exatidão do procedimento, uma vez que coloca o analito em contato com as substâncias existentes na mistura de amostra, avaliando sua interferência na resposta do procedimento. Os resultados de recuperação estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Estudo da recuperação de clotrimazol nas amostras de creme

Amostra	Adicionado / mol L^{-1}	Recuperado / mol L^{-1}	Recuperação / %
01	$1,47 \times 10^{-4}$	$1,44 \times 10^{-4} \pm 1,49 \times 10^{-5}$	97,5
	$2,95 \times 10^{-4}$	$2,71 \times 10^{-4} \pm 4,49 \times 10^{-6}$	91,8
	$4,42 \times 10^{-4}$	$4,34 \times 10^{-4} \pm 6,58 \times 10^{-6}$	97,9
02	$1,47 \times 10^{-4}$	$1,40 \times 10^{-4} \pm 1,26 \times 10^{-5}$	94,7
	$2,95 \times 10^{-4}$	$2,79 \times 10^{-4} \pm 8,37 \times 10^{-6}$	94,5
	$4,42 \times 10^{-4}$	$4,35 \times 10^{-4} \pm 1,11 \times 10^{-5}$	98,1
03	$1,47 \times 10^{-4}$	$1,35 \times 10^{-4} \pm 2,17 \times 10^{-5}$	91,7
	$2,95 \times 10^{-4}$	$2,76 \times 10^{-4} \pm 2,42 \times 10^{-5}$	93,4
	$4,42 \times 10^{-4}$	$4,32 \times 10^{-4} \pm 1,82 \times 10^{-5}$	97,4
04	$1,47 \times 10^{-4}$	$1,48 \times 10^{-4} \pm 8,00 \times 10^{-6}$	100
	$2,95 \times 10^{-4}$	$2,96 \times 10^{-4} \pm 1,03 \times 10^{-5}$	100
	$4,42 \times 10^{-4}$	$4,47 \times 10^{-4} \pm 1,50 \times 10^{-5}$	101

Média $\pm$ desvio padrão (n=3).

Pode-se verificar que os valores de recuperação nas amostras avaliadas foram menores que 100%, com exceção da amostra 4. As amostras de 1 a 3 apresentaram uma interferência negativa de sua matriz de amostra.

4.2 Desenvolvimento de um procedimento para determinação de diclofenaco de sódio em comprimidos

4.2.1 Efeito do solvente sobre o espectro de absorção

Como o diclofenaco é ligeiramente solúvel em água, solúvel em etanol e muito pouco solúvel em acetona[9], decidiu-se avaliar sua solubilidade em solução de hidróxido de sódio (NaOH) e etanol. Na sequência, avaliou-se a influência do solvente (solução de NaOH e etanol) sobre o coeficiente de absorvidade do diclofenaco (ϵ). Preparou-se uma solução estoque de diclofenaco de sódio DCF $3,57 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de etanol e em solução de NaOH $0,01 \text{ mol L}^{-1}$.

Diluições sucessivas (3000 μL , 300 μL , 100 μL , 30 μL e 15 μL) da solução de DCF foram realizadas em 10 mL de ambos solventes, e os espectros de absorção foram obtidos e são apresentados na Figura 6 e Figura 7.

Figura 6. Espectro de absorção do diclofenaco de sódio (a) $5,11 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, (b) $1,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, (c) $3,40 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, (d) $1,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ diluído em solução de NaOH $0,01 \text{ mol L}^{-1}$.

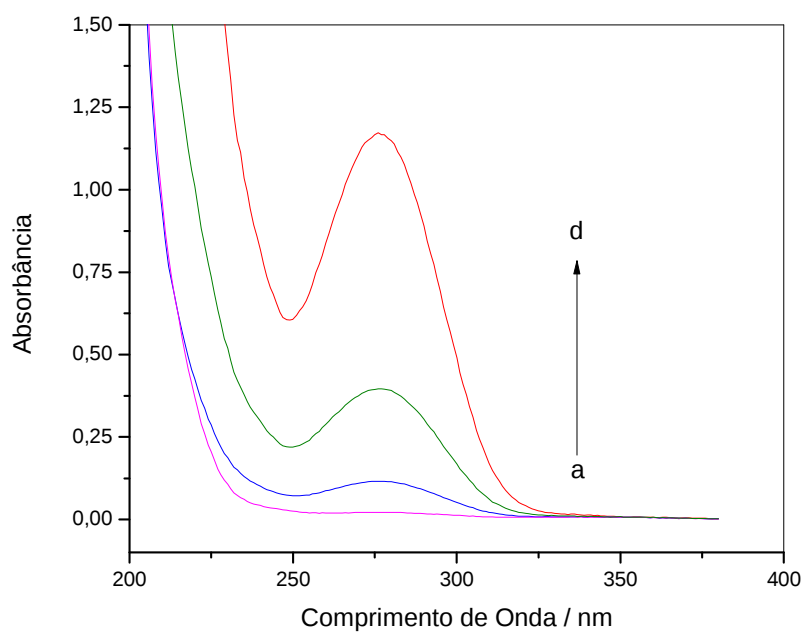
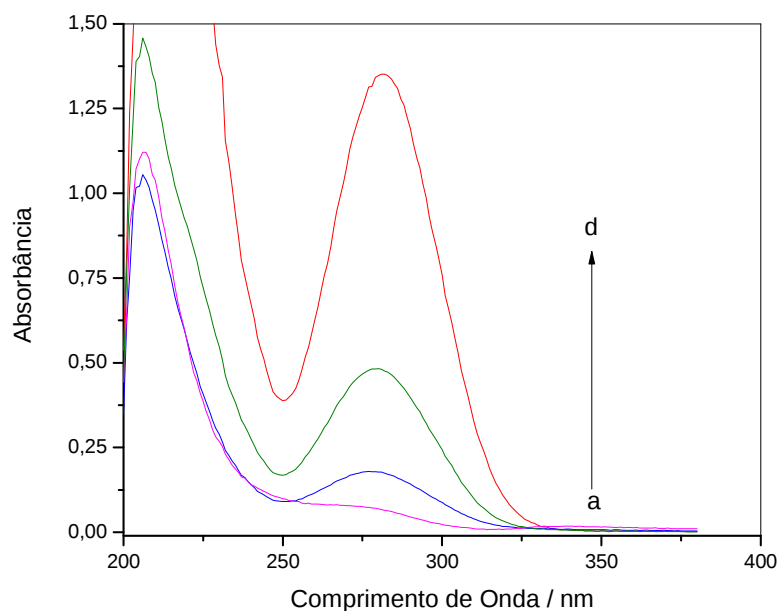


Figura 7. Espectro de absorção do diclofenaco de sódio (a) $5,11 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, (b) $1,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, (c) $3,40 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, (d) $1,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ diluído em etanol.



Estes espectros apresentaram um $\lambda_{\text{máximo}}$ em 275 nm, conforme obtido por Khaskheli et al. [19].

Com a intenção de avaliar o efeito do etanol sobre a absorbância do DCF, obtiveram-se diferentes espectros de soluções de DCF nas mesmas concentrações anteriores preparadas em meios diferentes (hidróxido de sódio 0,01 mol L⁻¹ e etanol). Verificou-se nos espectros obtidos que não houve significativa mudança do comprimento de onda de máxima absorção. Os coeficientes de absortividade (ϵ) do DCF foram calculados para cada solução nos diferentes meios e são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Coeficiente de absortividade molar obtidos no estudo do efeito do solvente

Concentração / mol L ⁻¹	ϵ / L mol ⁻¹ cm ⁻¹	
	NaOH / 0,01 mol L ⁻¹	Etanol
1,01x10 ⁻⁵	11448,89	17130,63
3,38x10 ⁻⁵	11732,64	14081,79
1,01x10 ⁻⁴	11575,17	13345,99

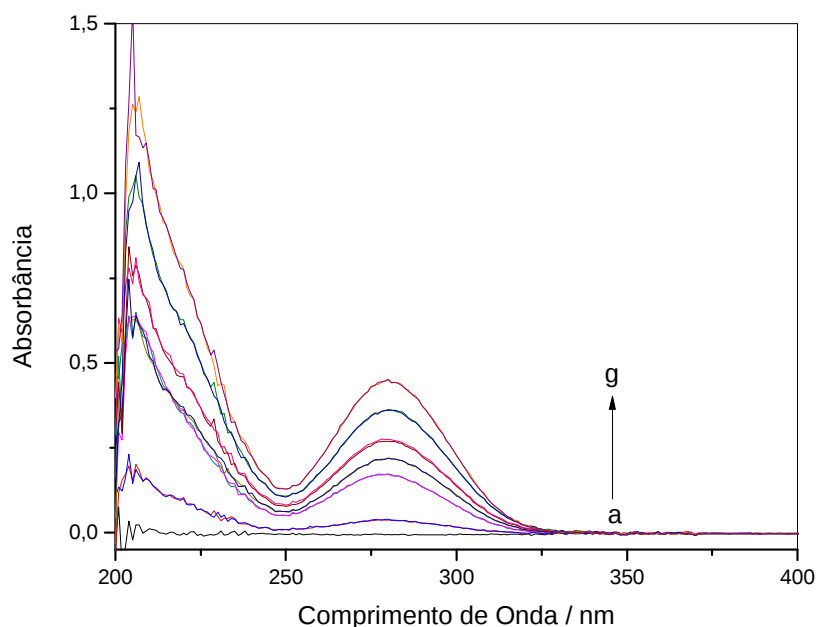
ϵ = coeficiente de absortividade molar.

Podemos verificar que os coeficientes de absortividade molar foram maiores quando se empregou etanol como solvente.

4.3 Curva analítica para determinação de diclofenaco de sódio em amostras de comprimidos

A linearidade do procedimento espectrofotométrico para determinação de diclofenaco foi avaliada construindo-se curvas analíticas com soluções padrões em meio de etanol. Ao longo deste estudo várias curvas analíticas foram construídas e suas retas de regressão foram obtidas. Os espectros de absorção foram obtidos e são mostrados na Figura 8.

Figura 8. Espectros de absorção das soluções padrão de diclofenaco de sódio (n=2). (a) 0 mol L⁻¹, (b) 3,92x10⁻⁶ mol L⁻¹, (c) 1,569x10⁻⁵ mol L⁻¹, (d) 1,96x10⁻⁵ mol L⁻¹, (e) 2,35x10⁻⁵ mol L⁻¹, (f) 3,13x10⁻⁵ mol L⁻¹, (g) 3,92x10⁻⁵ mol L⁻¹



As equações das retas de regressão e o valor de r para as curvas obtidas estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Equações das curvas analíticas obtidas dos procedimentos para determinação de diclofenaco de sódio

Equação da Curva Analítica	Coefficiente de regressão / r
$Abs = 11.811,43 \times [DCF] + 0,003$	0,9999
$Abs = 11.633,89 \times [DCF] + 0,00$	0,999
$Abs = 11.843,54 \times [DCF] + 0,00$	0,999

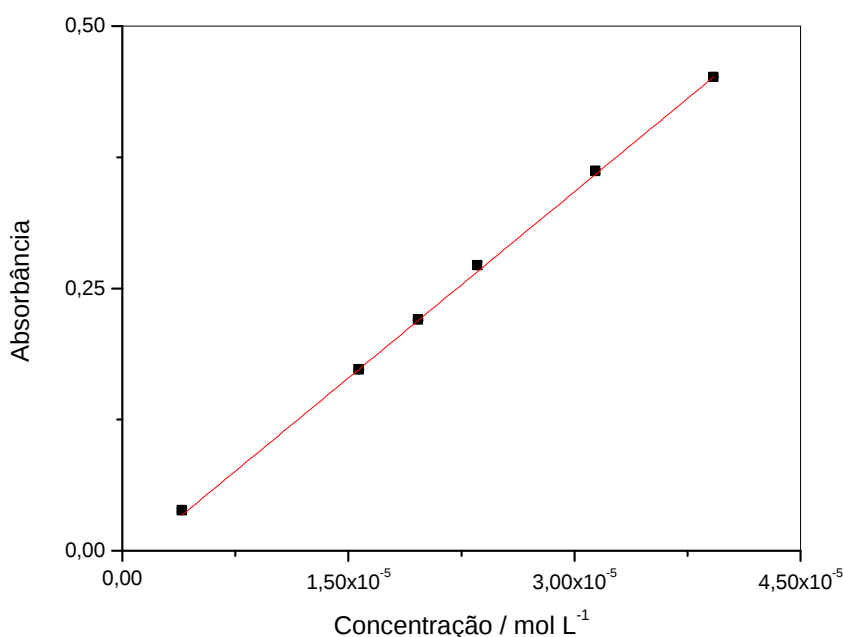
[DCF] = Concentração de diclofenaco de sódio.

As inclinações das curvas analíticas observadas indicam a sensibilidade do método. O coeficiente de variação (CV) das inclinações obtido foi de 0,96% para as curvas analíticas para a determinação de diclofenaco de sódio. Respeitou-se um intervalo de sete a vinte dias entre as análises para construção das curvas

analíticas, com o objetivo de avaliar o coeficiente de variação (CV) das inclinações das regressões lineares entre os dias. Para analisar o coeficiente de variação das inclinações das regressões lineares no mesmo dia, respeitou-se um intervalo de 24 horas.

A Figura 9 apresenta uma curva analítica obtida a partir de soluções padrão de diclofenaco. A curva pode ser descrita pela equação de regressão linear $Y = 11843,54 X + 0,00$ e com um coeficiente de correlação linear $(r) = 0,9999$.

Figura 9. Curva analítica para a determinação de diclofenaco de sódio em formulações farmacêuticas. $\lambda=275$ nm ($n=3$).



Os valores calculados para os limites de detecção e de quantificação mostraram-se coerentes com o observado na construção das curvas analíticas do DCF e do CLT ao longo deste estudo. O valor do limite de detecção estabelecido neste procedimento analítico para o DCF foi de $1,60 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ ($3 \times \sigma$ /inclinação da curva analítica)[23]. O limite de quantificação para a determinação de DCF foi de

$5,33 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Os parâmetros de confiabilidade analítica estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Parâmetros de confiabilidade analítica do procedimento para a determinação de diclofenaco de sódio em comprimidos

Parâmetro	Obtido
Faixa Linear / mol L^{-1}	$3,9 \times 10^{-6}$ a $3,9 \times 10^{-5}$
Equação da Curva Analítica	$\text{Abs} = 11.843,54 \times [\text{DCF}] + 0,00$
Repetibilidade	4,1% / $3,92 \times 10^{-6}$
	2,7% / $2,35 \times 10^{-5}$
	8,6% / $3,92 \times 10^{-5}$
Limite de Detecção / mol L^{-1} ($3 \times \sigma_{\text{branco}} / \text{inclinação}$)	$1,60 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$
Limite de Quantificação / mol L^{-1} ($10 \times \sigma_{\text{branco}} / \text{inclinação}$)	$5,33 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$

Abs = absorvância; [DCF] = concentração de diclofenaco de sódio; σ = desvio padrão.

A precisão do procedimento proposto foi avaliada obtendo-se o espectro de absorção de 10 diferentes soluções padrão de mesma concentração. As concentrações avaliadas foram de $3,92 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (concentração baixa), $2,35 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (concentração média) e $3,92 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (concentração alta). Os coeficientes de variação de 4,13%, 2,73% e 8,55% foram obtidos para as concentrações de DCF $3,92 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, $2,35 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $3,92 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente.

4.3.1 Estudo da recuperação de diclofenaco em comprimidos utilizando o procedimento proposto

No estudo de recuperação do analito, três concentrações diferentes de solução de referência de DCF ($9,80 \times 10^{-6}$, $1,96 \times 10^{-5}$ e $2,94 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) foram

adicionadas a diferentes soluções de amostras contendo uma concentração de DFC de $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e os resultados obtidos, descontados daqueles originalmente sem a adição da solução de referência, foram comparados. O valor da recuperação obtido é um indicativo da exatidão do procedimento, uma vez que coloca o analito em contato com as substâncias existentes na mistura de amostra, avaliando sua interferência na resposta do procedimento. Os resultados estão apresentados na Tabela 10

Tabela 10. Estudo de recuperação de diclofenaco de sódio nas amostras avaliadas

Amostra	Adicionado / mol L^{-1}	Recuperado / mol L^{-1}	Recuperação / %
01	$9,80 \times 10^{-6}$	$1,07 \times 10^{-5} \pm 7,07 \times 10^{-7}$	108
	$1,96 \times 10^{-5}$	$2,35 \times 10^{-5} \pm 4,56 \times 10^{-7}$	119
	$2,94 \times 10^{-5}$	$3,42 \times 10^{-5} \pm 5,73 \times 10^{-7}$	116
02	$9,80 \times 10^{-6}$	$1,14 \times 10^{-5} \pm 3,74 \times 10^{-7}$	115
	$1,96 \times 10^{-5}$	$2,30 \times 10^{-5} \pm 2,34 \times 10^{-7}$	117
	$2,94 \times 10^{-5}$	$3,51 \times 10^{-5} \pm 3,40 \times 10^{-7}$	119
03	$9,80 \times 10^{-6}$	$1,20 \times 10^{-5} \pm 4,60 \times 10^{-7}$	122
	$1,96 \times 10^{-5}$	$2,36 \times 10^{-5} \pm 4,12 \times 10^{-7}$	120
	$2,94 \times 10^{-5}$	$3,58 \times 10^{-5} \pm 6,62 \times 10^{-7}$	121
04	$9,80 \times 10^{-6}$	$1,02 \times 10^{-5} \pm 7,00 \times 10^{-7}$	103
	$1,96 \times 10^{-5}$	$2,22 \times 10^{-5} \pm 7,69 \times 10^{-7}$	113
	$2,94 \times 10^{-5}$	$3,43 \times 10^{-5} \pm 7,36 \times 10^{-7}$	116

Média $\pm$ desvio padrão, n=3.

Verifica-se na Tabela 10 uma recuperação em média de 110% e 120% indicando interferência da matriz de amostra na determinação de diclofenaco nas amostras analisadas. Como as soluções de amostras são límpidas, esta interferência positiva pode atribuída ao fato de substâncias hidrofóbicas possibilitarem a formação de micelas e concentrar o analito, como o estearato de

magnésio. Outra possibilidade que pode ser atribuída a interferência positiva no estudo de recuperação do DCF é a volatilização do solvente.

Avaliando a recuperação de diclofenaco nas amostras que contem outros princípios ativos (Tabela 11), verifica-se que os valores de recuperação foram maiores que 115%.

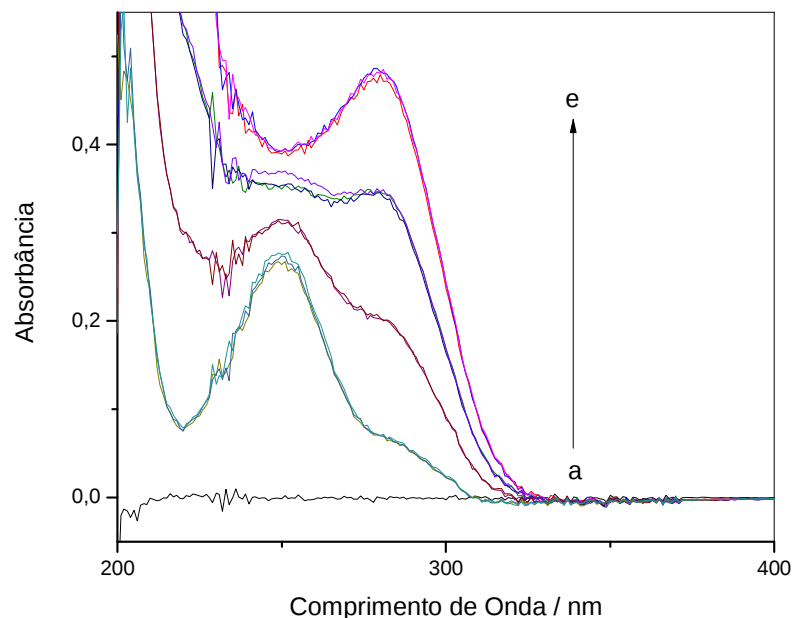
Tabela 11. Estudo de recuperação de diclofenaco nas amostras avaliadas contendo princípios ativos concomitantes

Amostra	Adicionado / mol L ⁻¹	Recuperado / mol L ⁻¹	Recuperação / %
05	9,80x10 ⁻⁶	1,13x10 ⁻⁵ ± 4x10 ⁻⁸	115
	1,96x10 ⁻⁵	2,34x10 ⁻⁵ ± 3x10 ⁻⁸	119
	2,94x10 ⁻⁵	3,48x10 ⁻⁵ ± 1x10 ⁻⁷	118
06	9,80x10 ⁻⁶	9,88x10 ⁻⁶ ± 4x10 ⁻⁸	100
	1,96x10 ⁻⁵	2,25x10 ⁻⁵ ± 4x10 ⁻⁷	114
	2,94x10 ⁻⁵	3,41x10 ⁻⁵ ± 1x10 ⁻⁷	115

Média ± desvio padrão, n=3.

Os espectros de absorção do estudo de recuperação de analito da amostra 05 contendo DCF são apresentados na Figura 10.

Figura 10. Espectro de absorção da Amostra 05 contendo DCF e princípios ativos como interferentes ($n=3$). (a) etanol, (b) solução de amostra; (c) $9,80 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; (d) $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; (e) $2,94 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

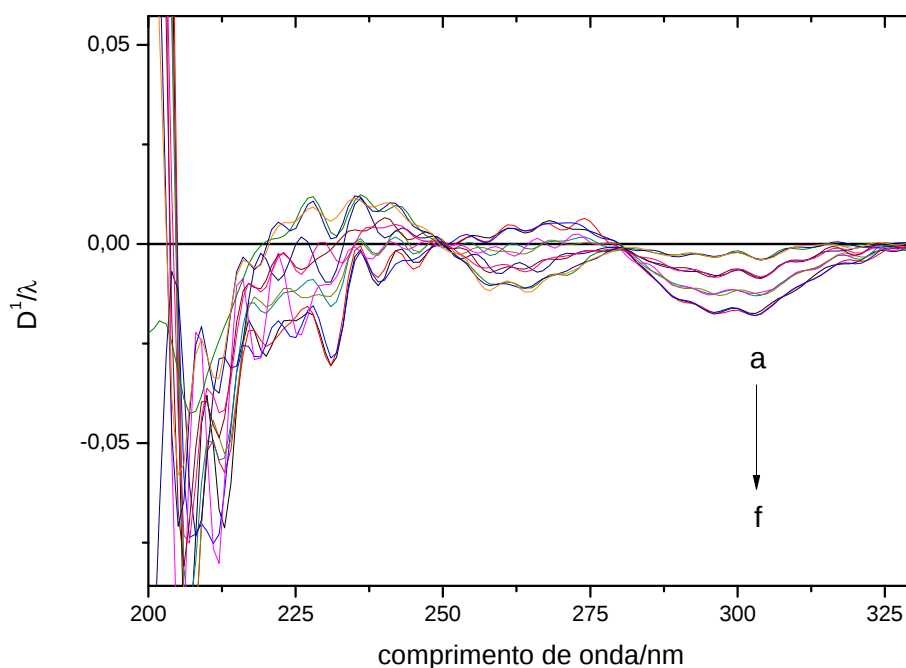


Verifica-se nos espectros deste estudo a contribuição da absorção de uma espécie química, que apresenta uma absorção máxima no comprimento de onda de 250 nm. A contribuição desta substância no espectro é bem visível no espectro da solução de amostra deste estudo. À medida que se adicionou as alíquotas de solução padrão de DCF, verifica-se o encobrimento desta banda. A presença desta substância, ou mistura, na solução de amostra ocasionou uma recuperação superior a 115% para esta amostra, impossibilitando o emprego deste procedimento para determinação de DCF nestas amostras.

Uma alternativa a espectrofotometria ultravioleta é a espectrofotometria derivativa, na qual a derivada do espectro de absorção é diretamente proporcional a concentração do analito, nas condições otimizadas[22]. Como as condições do procedimento propostos foram alcançadas buscando melhor valor de absorbância consideramos essas condições ótimas para a determinação do DCF. Obtendo-se as

derivadas dos espectros de absorção do estudo de recuperação da amostra 5 (Figura 11) podemos calcular os valores de recuperação do DCF para esta amostra.

Figura 11. Primeira derivada dos espectros de absorção do estudo de recuperação da amostra 05 de diclofenaco de sódio.



Como podemos verificar na Tabela 12, verifica-se uma melhora nos valores de recuperação para esta amostra.

Tabela 12. Recuperações obtidas para a amostra 5 empregando a espectrofotometria convencional (ordem zero) e espectrofotometria derivativa (primeira ordem)

Adicionado/ mol L ⁻¹	Recuperação / %			
	Ordem zero	CV	D ¹	CV
9,80x10 ⁻⁶	115,5	0,35	106	4,8
1,96x10 ⁻⁵	119,2	0,12	97,2	3,4
2,94x10 ⁻⁵	118,3	0,28	98,0	3,8

n=3; CV = Coeficiente de variação; D¹ = Primeira derivada.

Diante dos resultados obtidos e apresentados na Tabela 12, obteve-se as recuperações das amostras estudadas utilizando-se a espectrofotometria derivativa de primeira ordem. Os resultados das recuperações das amostras avaliadas estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 Recuperação das amostras estudadas utilizando-se a espectrofotometria derivativa de primeira ordem

Amostras	Adicionado/ mol L ⁻¹	Recuperação / %			
		Ordem zero	CV	D ¹	CV
01	9,80x10 ⁻⁶	109	6,6	98,1	5,3
	1,96x10 ⁻⁵	120	1,9	108	1,3
	2,94x10 ⁻⁵	116	1,7	106	1,3
02	9,80x10 ⁻⁶	116	3,3	106	1,5
	1,96x10 ⁻⁵	117	1,0	107	2,0
	2,94x10 ⁻⁵	119	9,7	110	1,1
03	9,80x10 ⁻⁶	122	3,8	110	2,9
	1,96x10 ⁻⁵	120	1,8	111	0,36
	2,94x10 ⁻⁵	122	1,9	111	0,82
04	9,80x10 ⁻⁶	104	6,9	107	0,9
	1,96x10 ⁻⁵	113	3,5	112	1,6
	2,94x10 ⁻⁵	116	2,2	112	0,4
06	9,80x10 ⁻⁶	100,7	3,9	93,3	1,15
	1,96x10 ⁻⁵	114,6	2,2	105	1,73
	2,94x10 ⁻⁵	115,8	0,4	108	0,39

Podemos verificar uma melhora nos resultados de recuperação do DCF nas amostras estudada. Apenas a amostra 4 apresentou uma recuperação superior a 110%. A precisão da recuperação também apresentou uma melhora para as amostras.

Devido a complexidade das amostras de comprimidos avaliadas verifica-se que algum dos excipientes contribuíram na absorção da solução de amostra em comprimentos de onda próximos ao máximo de absorção do diclofenaco. A obtenção da derivada dos espectros de absorção, tanto das soluções padrão, bem como das soluções de amostras permitiu uma diminuição da contribuição desses interferentes. Assim mesmo, verificaram-se valores de recuperação acima daqueles descritos que utilizaram a espectrofotometria.

A precisão na determinação de DCF diminuiu quando se empregou a espectrofotometria derivativa, mas permaneceram dentro do aceitável de 5%. Este fato se deve provavelmente a eliminação da contribuição das substâncias concomitantes na banda de absorção do DCF.

A determinação de DCF em produtos farmacêuticos foi estudada em diversos trabalhos com faixas lineares diversificadas. Ao longo deste trabalho a faixa linear foi obtida entre $3,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a $3,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Nos experimentos realizados por Sena et al.[16], Stülten et al.[17] e Martin et al.[18] as faixas de concentrações lineares das curvas foram similares à faixa obtida neste estudo. Para os ensaios executados por Martin et al.[18], a faixa de concentração linear foi de $3,37 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,01 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Os trabalhos desenvolvidos por Santini et al.[19] e Kormosh et al.[20] apresentaram uma faixa linear com concentração variando entre 10^{-5} a $10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. O procedimento desenvolvido por Tubino e de Souza[21] foi

que apresentou uma faixa de concentração mais alta ficando entre $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ a $5,5 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$.

Ao que se refere ao limite de detecção para determinação do DCF, a metodologia utilizada neste estudo mostrou-se mais sensível que Martin et al.[18], Santini et al.[19], Kormosh et al.[20] e Tubino e de Souza[21]. O limite de detecção obtido neste trabalho foi de $1,60 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, sendo inferior aos limites encontrados nos trabalhos anteriores, que foram de $1,55 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $3,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $3,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $2,36 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente.

Um limite de detecção de $6,08 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ foi obtido por Stülten et al. ao propor um procedimento para determinação de DCF em efluente de esgoto[17].

A faixa linear da curva analítica do procedimento proposto para a determinação de CLT foi de $2,95 \times 10^{-5}$ a $5,90 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Os trabalhos desenvolvidos por Abdel-Moety et al.[11], Lin e Wu[13] e Wienen et al.[25] utilizaram faixas lineares mais concentradas. Estas faixas foram respectivamente para Abdel-Moety et al.[11], Lin e Wu[13] e Wienen et al.[25] de $6,753 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $2,53 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, $1,15 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ a $7,53 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,44 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ a $2,89 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. Nos ensaios realizados por Pereira et al.[14] a faixa linear de $2,89 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $2,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ foi semelhante a faixa utilizada no desenvolvimento dos ensaios deste trabalho.

O limite de detecção do CLT obtido neste estudo foi de $3,04 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ enquanto que nos trabalhos realizados por Abdel-Moety et al.[11], Lin e Wu[13] e Wienen et al.[24] os limites de detecção foram $2,89 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $1,44 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e $8,69 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ respectivamente. Nos ensaios feitos por Pereira et al.[14] o limite de detecção obtido foi de $7,53 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ mostrando-se semelhante ao limite de detecção do procedimento proposto por este estudo.

Para os dois fármacos estudados, o limite de quantificação atendeu as expectativas do trabalho mostrando-se coerente com o limite de detecção encontrado através da equação da curva analítica.

A precisão deste método foi avaliada através da repetibilidade. O coeficiente de variação (CV) para o CLT variou de 2,6% a 4,1% para concentrações baixa, média e alta conforme os dados apresentados na Tabela 04. Para que o método seja considerado adequado, além de outros parâmetros abordados neste trabalho, é ideal que o coeficiente de variação da repetibilidade não ultrapasse 5%. Em relação ao DCF, o CV para concentração baixa foi de 4,13% e para concentração média o CV foi de 2,73%. Ambos os valores são considerados adequados segundo o parâmetro estabelecido para a precisão. No entanto, o CV para a concentração mais alta analisada na repetibilidade do DCF mostrou-se superior ao apresentado na literatura.

A exatidão da metodologia proposta foi avaliada pela recuperação do padrão adicionado nas soluções de amostras. Para que um procedimento seja exato, é ideal que a recuperação da substância padrão adicionada seja igual a 100%. Os valores consideráveis aceitáveis são aqueles descritos na literatura, pois a interferência de matriz varia para um mesmo tipo de amostra que possui composição diferente.

Os resultados obtidos na recuperação das amostras 01, 02, 03 e 04 de CLT estão descritos na Tabela 6. A amostra 01 apresentou uma recuperação entre 91,82% a 97,83%, a amostra 02 foi recuperada entre 94,54% e 98,14%, ao que concerne a amostra 03 estes valores ficaram entre 91,76% e 97,45% e a amostra 04 apresentou uma recuperação de 100% a 101%. O procedimento apresentou exatidão para todas as amostras de CLT analisadas, sendo que a amostra 04 que

apresentou um menor efeito de matriz da amostra. Segundo Abdel-Moety et al.[10], a determinação de CLT empregando cromatografia a líquido de alta performance (CLAE) obteve-se uma recuperação de 99,8% para amostras de CLT em forma de creme, comprimidos e solução. Hájková et al.[12] utilizando um procedimento CLAE com detecção UV para determinação de CLT em solução spray de 1%, a recuperação foi de 99,12%. Realizando estudos sobre o CLT, Lin e Wu[13] utilizou técnicas diferentes como cromatografia eletrocínética capilar micelar (CEM), eletroforese capilar e CLAE. O resultado obtido através de CEM foi de 98,3% e por CLAE 102,8%. A técnica usada por Pereira et al.[13], polarografia de pulso diferencial de CLT após derivatização com Procione Red HE-3B apresentou uma faixa de variação da recuperação entre 96,3% a 104%. No estudo realizado por Wienen et al.[24] a técnica proposta para a determinação de CLT foi a eletroforese capilar. Neste trabalho, as recuperações de CLT nas amostras avaliadas variaram entre 70% a 73%, evidenciando um maior efeito das matrizes de amostras.

O estudo da exatidão do DCF foi realizado em seis amostras diferentes. As amostras 01, 02, 03 e 04 possuíam apenas o DCF como princípio ativo. No entanto, as amostras 05 e 06 continham cafeína, paracetamol e carisoprodol como princípios ativos concomitantes. Os resultados obtidos mostraram-se inexatos, como é possível observar nas Tabela 10 e Tabela 11. Apenas a concentração mais baixa avaliada para as amostras 01, 04 e 06 apresentou valores dentro do percentual esperado. Técnicas como espectrofotometria UV combinada com regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) e CLAE foram utilizadas por Sena et al. no qual se obteve uma recuperação maior que 95% para DCF em cápsulas e comprimidos[16]. A espectrofotometria UV-Vis foi utilizada por Martin et al.[18], porém não foi descrito estudo de recuperação para o DCF. Arancibia et al.[18]

utilizou a espectroscopia de fluorescência e RMN de ^1H e uma recuperação acima de 99% foi obtida para as amostras avaliadas.

Santini et al.[19] e Kormosh et al.[20] utilizaram método potenciométrico com eletrodo de membrana íon seletivo sendo que obtiveram uma recuperação maior que 96,8% e uma recuperação de aproximadamente 100% respectivamente.

A robustez, por sua vez, foi avaliada através das inclinações das curvas analíticas do DCF e do CLT obtida em semanas diferentes. Os valores de inclinação foram obtidos por meio das equações de regressão das retas de cada curva. Para o CLT o CV foi calculado e o resultado foi de 3,26%, valor que também expressa estabilidade da solução do analito em questão. O coeficiente de variação da inclinação das curvas do DCF foi calculado e o resultado foi 0,95% indicando a estabilidade da solução utilizada no decorrer do trabalho.

5 CONCLUSÕES

O procedimento proposto empregando a espectrofotometria na região ultravioleta e etanol como solvente para determinação de clotrimazol em fármacos na forma de creme é um procedimento analítico alternativo que pode ser aplicado, pois apresenta sensibilidade, precisão, exatidão e robustez adequada na faixa linear estudada.

O uso de etanol como solvente na espectrofotometria na região ultravioleta possibilita a determinação de diclofenaco de sódio em comprimidos. Porém a determinação de diclofenaco pode ser realizada utilizando-se além da espectrofotometria na região do ultravioleta, a espectroscopia derivativa para eliminação de interferência. O emprego da espectroscopia derivativa contornou a interferência da matriz observada na determinação de DCF nas amostras contendo princípios ativos concomitantes. A espectroscopia derivativa aumenta a velocidade analítica e permite a aplicação do procedimento, sem a necessidade de separação prévia dos componentes da amostra, além de apresentar os parâmetros de confiabilidade.

Vantagens como aumento da velocidade analítica, baixo custo, simplicidade da técnica, menor toxicidade do solvente são observadas ao utilizar a espectrofotometria na região ultravioleta em conjunto com a espectrofotometria derivativa e etanol como solvente. Vantagens como estas tornam os procedimentos propostos interessantes para determinações de rotina pois apresentam produtividade, característica exigida em rotinas industriais

6 REFERÊNCIAS

- [1] HARRIS, D. C. **ANÁLISE QUÍMICA QUANTITATIVA**. New York: LTC, 2006.
- [2] SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de química analítica**. Pioneira Thomson Learning, 2006.
- [3] BORBA, P. A. A. et al. Desenvolvimento e validação de um método analítico por espectrofotometria UV para quantificação de carvedilol. **Química Nova**, v. 36, p. 582-586, 2013.
- [4] ROCHA, F. R. P.; TEIXEIRA, L. S. G. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS. **Química Nova**, v. 27, p. 807-812, 2004.
- [5] MENDHAM, J.; AFONSO, J. C. **Vogel: análise química quantitativa**. Livros Técnicos e Científicos, 2002.
- [6] CIENFUEGOS, F.; VAITSMAN, D. S. **Análise Instrumental**. INTERCIENCIA, 2004.
- [7] VIDOTTI, E. C.; ROLLEMBERG, M. C. E. Espectrofotometria derivativa: Uma estratégia simples para a determinação de corantes em alimentos. **Química Nova**, v. 29, p. 230-233, 2006.
- [8] SANTOS, L. G., S. S.; BERGOLD, A. M. Caracterização e qualificação de diclofenaco de sódio como padrão secundário **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, p. 355-361, 2007.
- [9] BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. 5. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010. 546p.
- [10] NIHON KÅ TEISHO, K. K. **The Japanese pharmacopoeia**. Society of Japanese Pharmacopoeia, 1996.
- [11] ABDEL-MOETY, E. M. et al. Chromatographic determination of clotrimazole, ketoconazole and fluconazole in pharmaceutical formulations. **Il Farmaco**, v. 57, n. 11, p. 931-938, 2003.
- [12] HÁJKOVÁ, R. et al. Development and validation of HPLC method for determination of clotrimazole and its two degradation products in spray formulation. **Talanta**, v. 73, n. 3, p. 483-489, 2007.
- [13] LIN, M.; WU, N. Comparison between micellar electrokinetic chromatography and HPLC for the determination of Betamethasone Dipropionate, Clotrimazole and their related substances. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 19, n. 6, p. 945-954, 1999.

- [14] PEREIRA, F. C. et al. Differential pulse polarographic determination of clotrimazole after derivatization with Procion Red HE-3B. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 27, n. 1, p. 201-208, 2002.
- [15] RAO, P. N. H. R. et al. Extractive spectrophotometric determinations of clotrimazole in formulations. **Asian journal of chemistry**, v. 14, p. 190-196, 2002.
- [16] SENA, M. M. et al. Direct determination of diclofenac in pharmaceutical formulations containing B vitamins by using UV spectrophotometry and partial least squares regression. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 36, n. 4, p. 743-749, 2004.
- [17] STÜLTEN, D. et al. Occurrence of diclofenac and selected metabolites in sewage effluents. **Science of The Total Environment**, v. 405, p. 310-316, 2008.
- [18] MATIN, A. A.; FARAJZADEH, M. A.; JOUYBAN, A. A simple spectrophotometric method for determination of sodium diclofenac in pharmaceutical formulations. **Il Farmaco**, v. 60, n. 10, p. 855-858, 2005.
- [19] SANTINI, A. O.; PEZZA, H. R.; PEZZA, L. Determination of diclofenac in pharmaceutical preparations using a potentiometric sensor immobilized in a graphite matrix. **Talanta**, v. 68, n. 3, p. 636-642, 2006.
- [20] KORMOSH, Z.; HUNKA, I.; BAZEL, Y. Potentiometric determination of diclofenac in pharmaceutical formulation by membrane electrode based on ion associate with base dye. **Chinese Chemical Letters**, v. 18, n. 9, p. 1103-1106, 2007.
- [21] TUBINO, M.; DE SOUZA, R. L. Determination of diclofenac in pharmaceutical preparations by diffuse reflectance photometry. **Talanta**, v. 68, n. 3, p. 776-780, 2006.
- [22] SZNITOWSKA, M.; STOKROCKA, M. Determination of diclofenac released from suppositories using UV spectrophotometry, spectra derivative spectrophotometry and HPLC. **Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research**, v. 63, p. 401-405, 2007.
- [23] MILLER, J. C.; MILLER, J. N. **Statistics for analytical chemistry**. Ellis Horwood PTR Prentice Hall, 1993.
- [24] WIENEN, F. et al. Determination of clotrimazole in mice plasma by capillary electrophoresis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 30, n. 6, p. 1879-1887, 2003.