



ENEPEX

ENCONTRO DE ENSINO,
PESQUISA E EXTENSÃO

8° ENEPE UFGD • 5° EPEX UEMS

DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO ANALÍTICA EMPREGANDO BIA COM DETECÇÃO AMPEROMÉTRICA PARA O DOSEAMENTO DE DIPIRONA EM MEDICAMENTOS

Leticia Machado Alencar¹; Rodrigo Amorim Bezerra da Silva²

UFGD-FACET, C. Postal 533, 79804-970 Dourados-MS, E-mail: leticiamachado93@hotmail.com
PIBIC/UFGD/CNPq¹; Pesquisador UFGD – FACET²

RESUMO

Neste trabalho foi desenvolvido um método eletroanalítico para determinar dipirona em medicamentos comerciais contendo apenas dipirona ou mistura de dipirona e cafeína. A metodologia desenvolvida utiliza a técnica Análise por Injeção em Batelada (BIA) com detecção amperométrica (AMP) e eletrodo de diamante dopado com boro (DDB). O método proposto apresentou uma faixa linear entre 0,1 a 25 mg L⁻¹, baixos limites de detecção (LD = 0,1278 mg L⁻¹) e de quantificação (LQ = 0,4262 mg L⁻¹) e elevada frequência analítica (100 injeções por hora). Além disto, o sistema proposto é simples, robusto e portátil. Os resultados obtidos pela metodologia proposta foram semelhantes aos obtidos pelo método recomendado pela farmacopeia brasileira (titulação iodimétrica). Além disto, as dosagens encontradas por ambos os métodos ficaram próximas aos valores rotulados nos medicamentos.

Palavras-Chave: Dipirona, Análise por injeção em batelada, Amperometria.

INTRODUÇÃO

Fármaco é substância principal da formulação do medicamento, responsável pelo efeito terapêutico, sendo um composto químico obtido por extração, purificação, síntese ou semi-síntese.

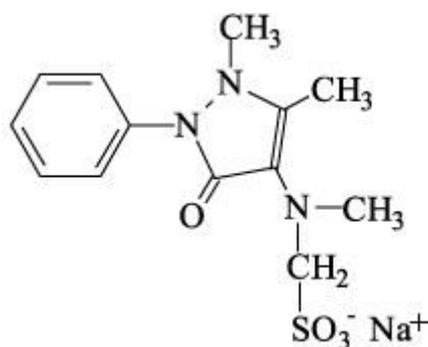
No Brasil, dentre os fármacos analgésicos, podemos destacar a dipirona (DI) como a mais comercializada. De acordo com Vale (2005) ela é responsável por 31,8% do

mercado nacional, seguida pelo paracetamol com 29,7%, e em terceiro o ácido acetilsalicílico com 27,1%. Existem no Brasil 125 produtos à base de dipirona, dos quais 71 deles estão associados à outra substância e mais de 80% das vendas ocorrem sem prescrição médica.¹

A dipirona foi comercializada em 1922, com o nome de Novalgina. Sua comercialização tornou-se crescente em todo o mundo, podendo ser encontrada no mercado sob diversos nomes comerciais e ser distribuído como único ou associado a outros fármacos.²

A dipirona é o nome popular do sal sódico do ácido 1-fenil-2,3-dimetil-5-pirazolona-4-metilaminometanossulfônico, ver Figura 1. A dipirona pode ser comercializada em diferentes formulações farmacêuticas, tais como: solução oral, injetável, comprimidos e supositórios.

Figura 1: Representação estrutural da dipirona sódica.



A Superdosagem pode provocar distúrbios renais transitórios (oligúria ou anúria, proteinúria e nefrite intersticial). Cuidados: repouso no leito, lavagem gástrica com carvão ativado, monitorização das funções vitais com terapêutica de suporte; eventualmente, diurese forçada e diálise.^{3,4-6}

Devido a esta popularização, da Dipirona é de grande importância à existência de métodos simples e confiáveis para a avaliação de suas formulações, visando a segurança dos medicamentos consumidos pela população.

O método recomendado pela farmacopeia brasileira para a determinação de dipirona em comprimidos é a titulação iodimétrica. Basicamente, o método consiste em

titular o medicamento dissolvido com uma solução padronizada de iodo $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando-se como indicador uma solução de amido 2% (m/v).⁷

Vários procedimentos espectrofotométricos são relatados na literatura para a determinação de dipirona na região do UV visível, envolvendo reações com diversos reagentes. Além disto, outras metodologias são relatadas empregando a fluorimetria, quimioluminescência e cromatografia líquida de alta eficiência.²¹

Já para métodos eletroquímicos são poucos os procedimentos utilizados para determinar a dipirona. Como: Belal⁸ utilizou um procedimento utilizando a polarografia clássica para a determinação simultânea de ácido ascórbico e dipirona em fármacos. Perez-Ruiz e colaboradores⁹ propuseram um eletrodo de carbono vítreo para a determinação de dipirona em um sistema de análise por injeção em fluxo. Medeiros et al.¹⁰ desenvolveram um sistema FIA com detecção biamperométrica para a quantificação de dipirona. Marcolino- Junior et al.¹¹ desenvolveram um procedimento para a determinação amperométrica de dipirona em formulações farmacêuticas utilizando um eletrodo de pasta de carbono acoplado a uma célula eletroquímica em um sistema de análise por injeção em fluxo.

A química eletroanalítica compreende um grupo de métodos analíticos baseados nas propriedades elétricas de um analito em solução, tais como correntes, resistência, diferença de potencial e carga. Em alguns casos as propriedades elétricas são medidas em função do tempo. Tem como principais vantagens os baixos limites de detecção e o baixo custo da instrumentação.

Em geral a detecção eletroquímica oferece algumas vantagens frente à detecção outras técnicas analíticas de detecção, tais como:

- a) as medidas podem ser normalmente realizadas sem purificações ou separações prévias;
- b) o analito pode interagir diretamente com a superfície do eletrodo de trabalho, tornando desnecessária a adição de reagentes;
- c) é possível a análise de amostras contendo partículas sólidas dispersas;
- d) baixo custo de aquisição e manutenção dos equipamentos e materiais utilizados;
- e) possibilidade do uso de materiais alternativos e dispositivos miniaturizados¹⁷.

Para as medidas eletroquímicas geralmente é utilizada uma célula eletroquímica, composta por um reservatório para a inserção do eletrólito suporte e de três eletrodos (eletrodo de referência - ER, eletrodo auxiliar - EA e o eletrodo de trabalho - ET). Nesta

configuração, processos de oxi-redução não espontâneos podem ocorrer na superfície do ET. Comercialmente, são conhecidos alguns materiais de eletrodo de trabalho, tais como eletrodos metálicos e eletrodos de carbono, como o grafite, carbono vítreo e diamante dopado com boro (DDB).

O eletrodo de trabalho de diamante devido ao seu grande gap de energia (do inglês band-gap) de mais de 5 eV, o diamante puro é normalmente um isolante, e não pode ser usado com um material para eletrodo¹⁸. Porém, diamantes podem se tornar condutores quando dopados com alguns elementos¹⁹. Atualmente, o dopante mais utilizado é boro, porém sendo possível também a dopagem com fósforo e de nitrogênio.

Os eletrodos de diamante dopado com boro (DDB) possuem um número importante de propriedades eletroquímicas distinguíveis de outros eletrodos utilizados, tais como carbono vítreo, grafite pirolítico e pasta de carbono. Algumas destas propriedades são¹³:

- a. Estabilidades à corrosão em meios muito agressivos;
- b. Baixa e estável corrente de fundo;
- c. Estabilidade de resposta em longo prazo;
- d. Fraca adsorção de moléculas polares e
- e. Larga janela de potencial em meio aquoso e não aquoso.

Em função dessas propriedades únicas, o eletrodo de diamante dopado com boro está sendo cada vez mais utilizado no desenvolvimento de procedimentos eletroanalíticos para a determinação de compostos orgânicos e inorgânicos.

Além da célula eletroquímica, para realizar medidas eletroquímicas é necessário escolher a técnica eletroquímica utilizada, de maneira a definir qual perturbação será aplicada no sistema.

A voltametria cíclica é a técnica mais utilizada para a aquisição qualitativa de informações sobre reações eletroquímicas. Na voltametria cíclica, o potencial aplicado ao eletrodo de trabalho varia continuamente com o tempo na forma de onda triangular, partindo de um valor inicial E_i , até um valor limite pré-determinado, E_v . Ao alcançar E_v , a direção da varredura é invertida e um caminho inverso é percorrido até chegar a E_f , que pode ser o valor do potencial E_i , ou outro valor de potencial pré-estabelecido. O sinal de corrente registrado dá origem ao voltamograma que se trata de um gráfico da corrente em função do potencial aplicado.

Na amperometria, um potencial constante é aplicado no eletrodo do trabalho em função do tempo e então a corrente do processo redox (redução ou oxidação) de

determinado analito é proporcional à sua concentração, desde que as condições da célula iniciais sejam mantidas¹⁷.

BIA é uma técnica analítica divulgada pela primeira vez em 1991, através de um trabalho publicado por Wang e Taha¹². Nesta técnica, a solução de análise é injetada diretamente na superfície do eletrodo de trabalho localizado numa célula eletroquímica contendo um grande volume de eletrólito suporte e inerte (célula BIA).

Na célula BIA, o eletrodo de trabalho está posicionado na direção oposta à da injeção, ou seja, ele se encontra na parte de baixo da célula. Para a injeção das soluções de análise é utilizada uma micropipeta eletrônica. A micropipeta é acomodada em um orifício (localizado na tampa da célula) posicionado na direção exatamente oposta (frontal) ao eletrodo de trabalho, de modo que todas as injeções sejam feitas com a mesma distância entre a ponteira e o eletrodo de trabalho. Em outros dois orifícios localizados na tampa da célula são fixados o eletrodo de referência e o eletrodo auxiliar. Opcionalmente pode também ser inserido um agitador por um orifício na tampa também, para acelerar o transporte de massa no interior da célula. Por último, é adicionada a solução do eletrólito suporte em volume suficiente para que os três eletrodos tenham contato elétrico entre si.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma metodologia para a análise de dipirona em formulações farmacêuticas empregando um sistema de análise por injeção em batelada (BIA) com detecção amperométrica. Para verificar a eficácia desta metodologia, as análises de medicamentos contendo DI também foram realizadas pelo método indicado pela farmacopeia (titulação iodométrica).

MATERIAL E MÉTODOS

Reagentes, soluções e amostras

Todos os reagentes utilizados nos experimentos foram de pureza analítica, e todas as soluções foram preparadas com água destilada.

A solução do eletrólito suporte (ácido sulfúrico 0,5 mol L⁻¹) foi preparada pela diluição do ácido concentrado. As soluções estoques dos padrões utilizados (dipirona, cafeína ou ferrocianeto de potássio) foram preparadas pesando-se uma massa apropriada de cada padrão e dissolvendo em um balão volumétrico adequado com a solução do eletrólito suporte. As soluções injetadas no sistema BIA foram preparadas pela diluição das respectivas soluções estoque na solução do eletrólito suporte.

As amostras de fármacos DI, V e L, utilizadas para a determinação de dipirona foram adquiridas nas farmácias locais. Para o preparo das amostras, oito comprimidos de cada amostra foram pulverizados com auxílio de almofariz e pistilo até a obtenção de um pó fino. Posteriormente, as respectivas massas foram pesadas em balança analítica e dissolvidas no eletrólito suporte em um balão volumétrico.

Análise de dipirona nas amostras por titulação iodimétrica

Para a titulação o medicamento contendo DI é solubilizado em água destilada, acidificada com HCl 0,02 mol L⁻¹ e titulada 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.¹

Instrumentação

Medidas eletroanalíticas

As medidas eletroquímicas foram realizadas empregando-se um mini potenciostato portátil (Emstat, PalmSens[®]) interfaceado a um netbook contendo software PSLite 1.8 para o controle das técnicas eletroquímicas e respectivas variáveis. Um mini eletrodo de Ag/AgCl/KCl_{sat.} construído em laboratório, um fio de platina e uma placa de diamante dopado com boro (DDB) (Empresa Adamant Technologies As (La Chaux-de-Fonds, Suíça) foram empregados como eletrodo de referência, auxiliar e de trabalho, respectivamente (Figura 2).

Na célula eletroquímica de análise por injeção em batelada (BIA) (Figura 3) é possível trabalhar com um volume de eletrólito de aproximadamente 100 mL. Conforme apresentado, possui quatro orifícios na tampa, sendo dois menores para acomodação dos eletrodos de referência e auxiliar, um orifício central para o posicionamento do injetor (pipeta eletrônica Eppendorf[®] Multipette Stream) e um orifício maior para a entrada de um agitador mecânico construído em laboratório. Na parte inferior central da célula (não apresentada) é posicionada a placa de DDB. Neste trabalho foram utilizadas as técnicas de voltametria cíclica e amperometria de potencial constante.

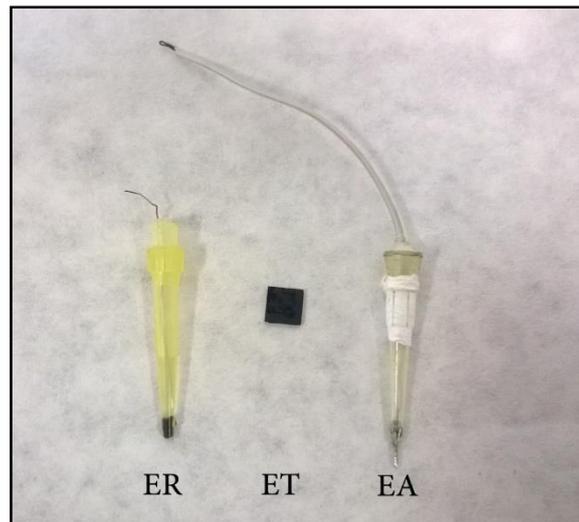


Figura 2. Foto do eletrodo de $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}_{\text{sat}}$. (ER), placa de diamante dopado com boro (ET) e fio de platina (EA).

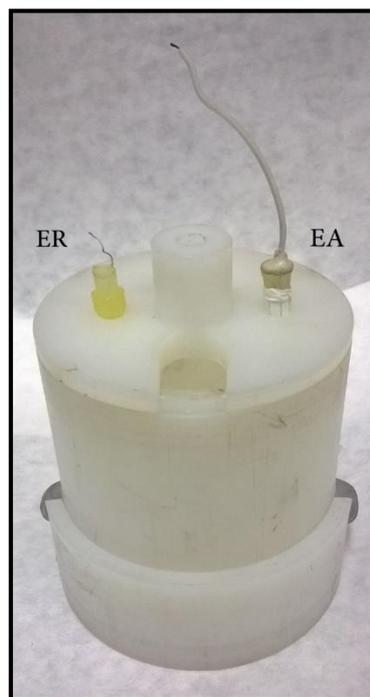


Figura 3. Foto da célula eletroquímica de BIA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Primeiramente, de maneira a obter um melhor resultado na resposta eletroquímica do eletrodo para determinar dipirona, foi realizado um estudo da ativação (pré-tratamento eletroquímico) do eletrodo. Neste estudo, foi realizado um tratamento anódico (0,1 A por 75 s) seguido de um tratamento catódico (-0,1 A por 300 s) no eletrodo de DDB em meio de solução de ácido sulfúrico 0,5 mol L⁻¹. Na Figura 4 são apresentados os voltamogramas cíclicos para ferrocianeto de potássio em DDB antes e após esta ativação. Conforme observado, após a ativação o eletrodo apresentou melhora na reversibilidade do par redox, indicando aumento na taxa de transferência eletrônica, como sugerem Suffredini et al.²⁰ baseado nos estudos de impedância, a melhora no sinal analítico é mais acentuada com o tratamento catódico quando comparada ao tratamento anódico, devido provavelmente à presença de uma camada passiva sobre a superfície do eletrodo após o tratamento anódico. Logo, a ativação do DDB foi realizada anteriormente às medidas em todos os estudos posteriores.

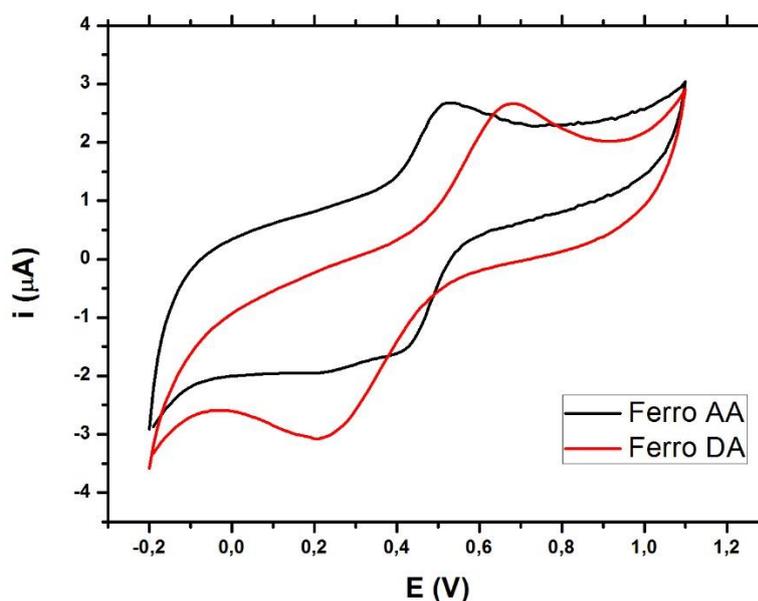


Figura 4. Voltamograma cíclico para injeção de 1,0 mL de solução de ferrocianeto de potássio 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o eletrodo de DDB na célula BIA. Legenda: AA= Antes da ativação; DA= Depois da ativação. Condições: Velocidade de varredura: 0,1 V s^{-1} , velocidade de dispensa: 25 $\mu\text{L s}^{-1}$; Eletrólito suporte: solução de H_2SO_4 0,1 mol L⁻¹.

Posteriormente o comportamento eletroquímico da DI e CA sobre a superfície do eletrodo de DDB foi observado. Inicialmente foram realizados experimentos com DI e CA separadamente com o eletrodo de BDD, utilizando a detecção amperométrica. Neste estudo, as soluções foram injetadas na célula BIA diretamente sobre a superfície do eletrodo de trabalho enquanto este era submetido a aplicação de um potencial constante. Na detecção de DI, os potenciais foram variados de 0,0 V até + 1,7 V e para CA foram variados no intervalo de +0,8 V até + 1,7 V (ambos em incrementos de 0,1 V), enquanto 50 μ L de solução de DI ou CA eram injetados sobre a superfície do DDB na célula BIA. As correntes de pico obtidas para cada potencial aplicado no eletrodo de trabalho são apresentadas na Figura 5. A partir destes resultados, foi selecionado o potencial de +1,2 V para a detecção de DI, pois deste modo a Dipirona pode ser detectada seletivamente sem a interferência de cafeína, que exibe uma oxidação apreciável em potenciais superiores a + 1,4 V.

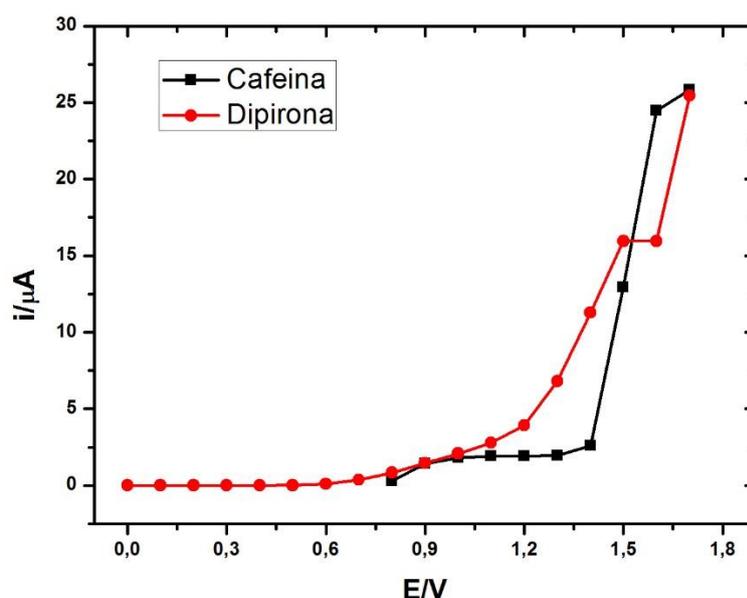


Figura 5. Perfil voltamétrico obtido a partir das correntes de pico de DI e CA em função do potencial aplicado no eletrodo de DDB. Condições: Eletrólito: H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} . Volume injetado de 50 μ L.

A otimização do volume injetado de dipirona no eletrodo foi investigada. Para tal, foram injetados em triplicata distintos volumes de solução de dipirona na célula BIA (10, 20, 30, 50, 70, 100, 120, 150, 200 e 250 μ L). A Figura 6 apresenta as correntes de

pico (e os respectivos desvios) para estas injeções. Logo, foi escolhido um volume de injeção de 100 μ L, visto ser uma condição na qual a corrente é relativamente alta.

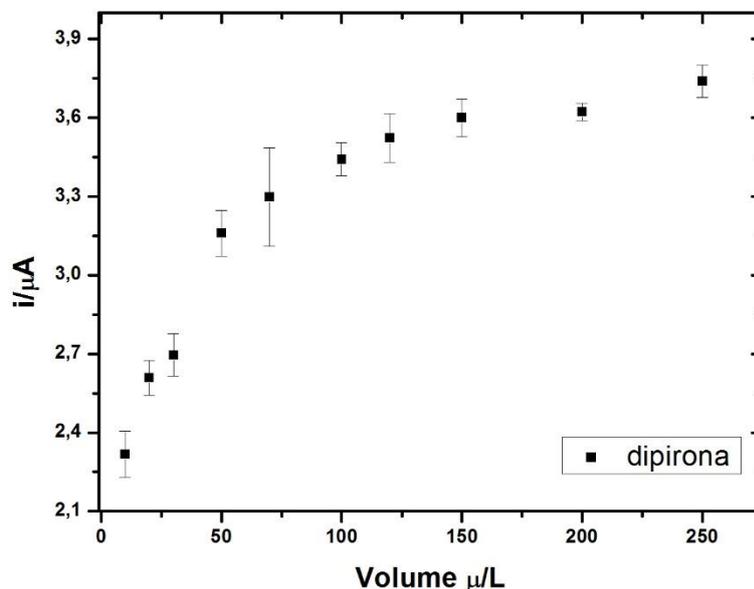


Figura 6. Correntes de pico (e respectivos desvio) obtidas a partir das injeções de dipirona em triplicata em distintos volumes injetados (10, 20, 30, 50, 70, 100, 120, 150, 200 e 250 μ L). Condições: Eletrólito: H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹. Potencial: 1,2V. Velocidade de dispensa: 134 μ L s⁻¹.

Posteriormente, foi realizado o estudo das correntes de pico em função da velocidade de dispensa do injetor. A micropipeta eletrônica empregada para as injeções no sistema BIA (Eppendorf Multipipette Stream) oferece dez velocidades de injeção diferentes (níveis 1 até 10). Experimentalmente, foi calculado que estes níveis correspondem, respectivamente, às seguintes velocidades de injeção: $v_1 = 24$; $v_2 = 34$; $v_3 = 46$; $v_4 = 64$; $v_5 = 83$; $v_6 = 91$; $v_7 = 134$; $v_8 = 162$; $v_9 = 200$ e $v_{10} = 259$ μ L s⁻¹. Então, para investigar as características do sistema em função da velocidade de injeção, três alíquotas de 100 μ L de uma solução de dipirona foram inseridas em cada velocidade de dispensa disponível. A Figura 7 apresenta as correntes de pico médias (e respectivos desvios padrões) em função das velocidades de dispensa. Conforme observado, quanto maior a velocidade de injeção, maior a corrente observada. Logo, nos experimentos posteriores foi utilizada a velocidade de 259 μ L s⁻¹. Além disso nessa velocidade o

sistema apresentou uma boa repetibilidade, representado pelos baixos desvios padrões encontrados na Figura 7.

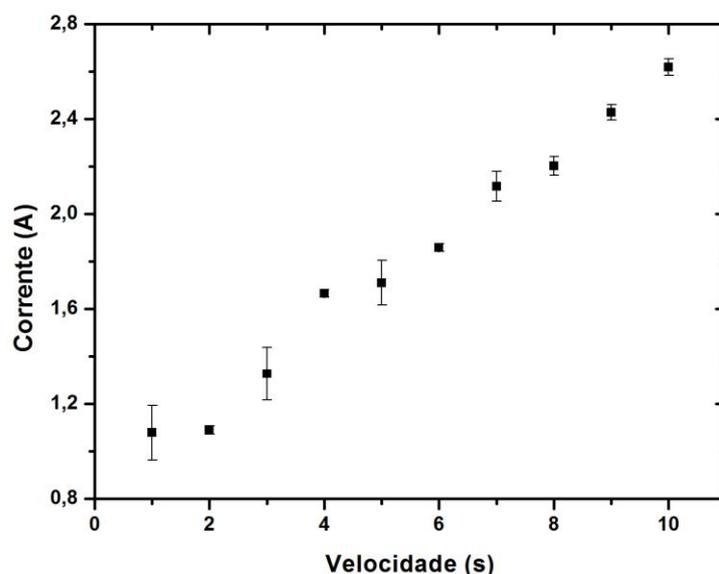


Figura 7. Perfil dos picos amperométricos obtidos com injeções de solução de dipirona $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ em diferentes velocidades de injeção (1 até 10: 24 a $259 \mu\text{L/s}$); Condições: Eletrólito: H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Potencial $1,2\text{V}$.

Apesar das variáveis até então otimizadas (velocidade de dispensa = $259 \mu\text{L s}^{-1}$ e volume injetado = $100 \mu\text{L}$), o sistema ainda apresentava lentidão na resposta, consequentemente uma baixa frequência analítica (22 injeções por hora). Logo, de maneira a acelerar as respostas, foi investigado o uso de um agitador mecânico na célula BIA. Neste estudo, oito injeções de solução de Dipirona 15 mg L^{-1} foram realizadas na ausência de agitação (Fig. 8A), oito injeções foram realizadas na presença de agitação mecânica alimentada por uma bateria de 9 V (Fig. 8B, 1ª a 8ª injeção) e outras oito injeções por cabo USB ligado ao notebook ($E \approx 5 \text{ V}$) (Fig. 8B, 9ª a 16ª injeção). Conforme apresentado, o agitador mecânico promove uma diminuição do tempo de análise, devido à diminuição da largura do pico. Este fenômeno ocorre, pois o analito é retirado (“lavado”) mais rapidamente da superfície do eletrodo, devido à convecção promovida pela agitação. No entanto, para agitações muito intensas (bateria de 9V), a repetibilidade dos sinais foi um pouco comprometida. Logo, nos experimentos posteriores foi utilizada a agitação alimentada por cabo USB do notebook.

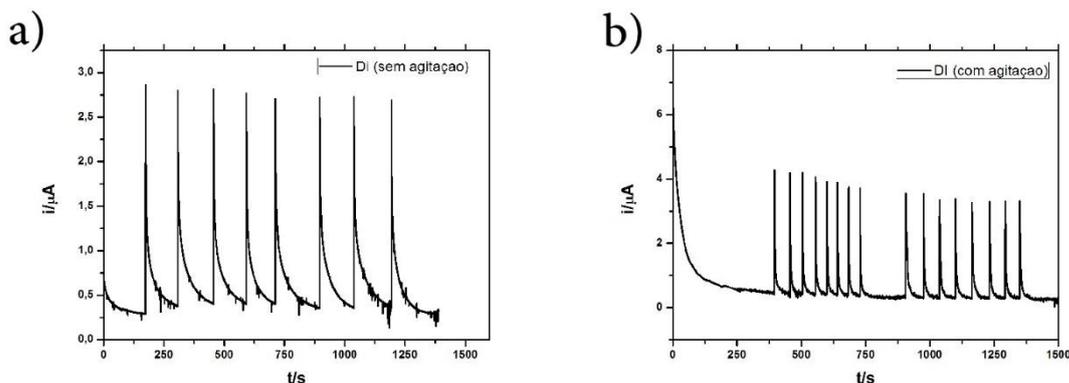


Figura 8. a) Amperograma obtido para injeções da solução de DI 15 mg L^{-1} no sistema BIA na ausência de agitação e b) na presença de agitação mecânica alimentada por bateria de 9V (1^a a 8^a injeção) e por cabo USB conectado ao computador ($E \approx 5 \text{ V}$) (9^a a 16^a injeção). Volume injetado de $100 \text{ } \mu\text{L}$; Velocidade de injeção de $259,0 \text{ } \mu\text{L s}^{-1}$.

Após as otimizações dos parâmetros que envolvem a amperometria, a curva analítica foi construída pela adição de soluções de dipirona de concentrações crescentes em triplicata. A Figura 9 apresenta o amperograma obtido para injeções em triplicata de oito soluções padrão de dipirona ((1) 0,26, (2) 1,06, (3) 2,93, (4) 5,06, (5) 10, (6) 15,06, (7) 20, (8) $25,06 \text{ mg L}^{-1}$) e de três amostras de dipirona dissolvidas previamente no eletrólito suporte. As amostras foram nomeadas como DI, V e L. Na Figura 10 é apresentada a curva analítica de calibração calculada para estas soluções padrão injetadas. A equação da reta obtida foi: $(I/ \mu\text{A}) = 0,30192 + 0,331 [\text{DI}] \text{ mg L}^{-1}$ e o coeficiente de correlação foi igual a 0,9998. Logo, a curva analítica teve uma faixa linear de 0,1 a 25 mg L^{-1} , sensibilidade de $0,331 \text{ } \mu\text{A mol}^{-1} \text{ L}$, limite de detecção de $0,1278 \text{ mg L}^{-1}$ e limite de quantificação de $0,4262 \text{ mg L}^{-1}$.

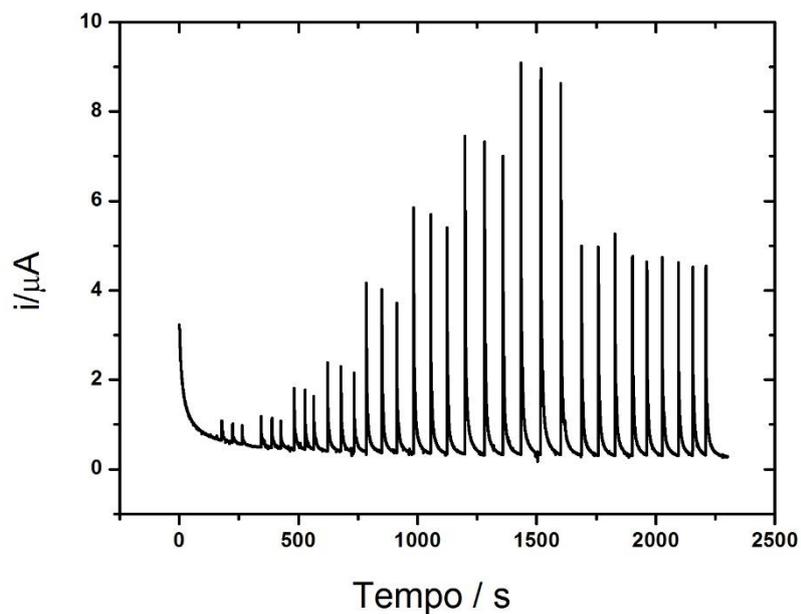


Figura 9. Amperograma obtidos para injeções em triplicata de soluções de DI em diferentes concentrações (1 a 8: 0,26 mg L⁻¹ a 25,06 mg L⁻¹). Eletrólito: H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹. Condições: Velocidade de dispensa: 259 μL s⁻¹; volume injetado = 100 μL; Agitador mecânico alimentado por cabo USB (≈ 5 V).

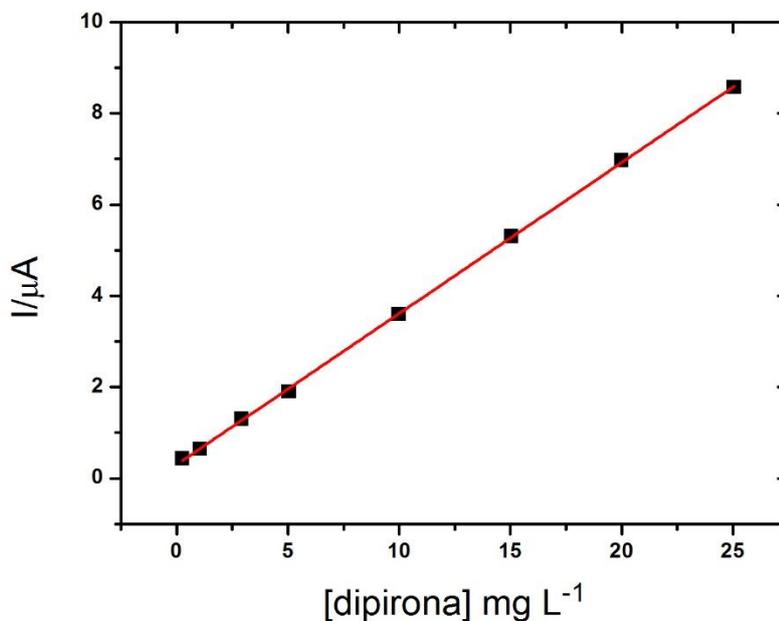


Figura 10. Curva analítica de calibração de dipirona calculada a partir das correntes de pico dos padrões da Figura 9.

A partir da inserção das correntes de pico na equação de reta obtida e considerando as dissoluções e diluições realizadas, foram então calculados os teores de dipirona em cada comprimido pelo método BIA-AMP. Conforme apresentado na Tabela 1, os teores encontrados pelo método proposto foram próximos aos valores rotulados, indicando exatidão do método e ausência de interferência da cafeína nas medidas. Além disto, estas dosagens obtidas foram próximas ao método recomendado pela Farmacopeia brasileira (titulação iodimétrica).

Tabela 1. Dosagens rotuladas de dipirona e obtidas pelos métodos BIA-AMP e titulação iodimétrica.

Amostras	Dosagem rotulada		Teor de DI	
	DI	CA	BIA-AMP	Tit. iodimétrica
DI	500 mg	0 mg	489,01 mg	486,09 mg
V	250 mg	30 mg	232,66 mg	245,61 mg
L	250 mg	30 mg	222,99 mg	254,23 mg

CONCLUSÕES

Através dos resultados apresentados neste trabalho foi possível concluir que o método proposto (análise por injeção em batelada com detecção amperométrica) apresenta potencialidade para a determinação seletiva de dipirona em medicamentos que contenham dipirona ou mistura de dipirona e cafeína. As dosagens obtidas por este método foram similares às dosagens calculadas pelo método recomendado pela farmacopeia brasileira (titulação iodimétrica). Além disto, o método proposto apresentou uma boa precisão e rapidez, além de ser portátil e estável.

AGRADECIMENTOS

Aos órgãos de fomento CNPq e Fundect.

REFERÊNCIAS

- ¹VALE, N. Desmistificando o Uso da Dipirona. In: Cavalcanti II, Cantinho FAF, Assad A. Medicina Perioperatória. Rio de Janeiro: Sociedade de Anestesiologia do Estado do Rio de Janeiro, 2006. Cap. 126, p. 1107-1123.
- ²MARCOLINO JUNIOR, L. H.; BONIFÁCIO, V. G.; FATIBELLO FILHO, O. Determinação turbidimétrica de dipirona em fluxo utilizando um reator contendo cloreto de prata imobilizado em resina poliéster. *Quim. Nova*, [S.I.], v. 28, n. 5, p. 783-787, Jun. 2005.
- ³Burke A, Smyth E, Fitzgerald GA - Analgesic-Antipyretic and Antiinflammatory Agents; Pharmacotherapy of Gout, em: Brunton LL, Lazo JS, Parker KL – Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill 11th ed N York ,2005, p 671.
- ⁴Brack A, Rittner HL, Schafer M - Non-opioid analgesics for perioperative pain therapy. Risks and rational basis for use (in German) *Anaesthesist*. 2004;53:263-280.
- ⁵ Arellano F, Sacristán JA. Metamizol: reassessment of its therapeutic role. *Eur J Clin Pharmacol* 1990; 38: 617- 619.
- ⁶ Doretto M , Garcia-Cairasco N, Pimenta NJ .et al - Dipyron, a novel anticonvulsant agent? Insights from three experimental epilepsy models. *Neuroreport*, 1998; 9:2415-2421
- ⁷ Farmacopéia brasileira, ANVISA, Brasília 2010.
- ⁸ Belal, F., “similtaneous Polarographic-Determination of Ascorbic-Acid and Dipyron in Pharmaceutical Preparations”. *Electroanalysis*. 1992.
- ⁹ Perez-Ruiz, T.; Lozano, C.M. & Tomas, V., “Flow-Injection Determination of Novalgin Using Amperometric Detection at a Glassy-Carbon Electrode”. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1994.

- ¹⁰ Medeiros, E.P.; Castro, S.L.; Formiga, F.M.; Santos, S.R.B.; Araujo, M.C.U. & Nascimento, V.B., “ a flow injection method for biamperometric determination of dipyrone in pharmaceuticals”. *Microchem J.* 2004.
- ¹¹ Marcolino-Junior, L.H., Bergamini, M. F., Teixeira, M. F. S., Cavaleiro, E. T. G., Fatibello-Filho, O., “Flow injection amperometric determination of dipyrone in pharmaceutical formulations using a carbon paste electrode”. *Farmaco.* 2003.
- ¹² Wang, J., and Taha, Z. Batch Injection Analysis. *Analytical Chemistry*, **1991**, 63, (10), 1053-1056.
- ¹³ Panizza, M.; Cerisola, G. Application of Diamond electrodes to electrochemistry. *Diamond and related Materials*, 2003.
- ¹⁴ Pleskov, Y. V. Electrochemistry of Diamond: a review. *Russian Journal Electrochemistry*, 2002.
- ¹⁵ Kraft, A. Doped Diamond: a compact review on new, versatile electrode material. *International Journal of Electrochemical Science*, 2007.
- ¹⁶ Pleskov, Y. V. Synthetic Diamond, a new electrode material for electroanalysis. *Journal of Analytical Chemistry*, 2000.
- ¹⁷ Brett, C.M.A., and Brett, A. M. O., *Electrochemistry: Principles, Methods, and Applications*, 1^a ed., Oxford, New York, 1993, p. 427.
- ¹⁸ Pleskov, Y.V. Electrochemistry of Diamond: a review. *Russian Journal Electrochemistry*, v. 38, n. 12, p. 1275-1291, 2002.
- ¹⁹ Sussmann, R. S. *CVD Diamond for electronic devices and sensors*. New York: John Wiley, 2009. 571 p.
- ²⁰ Suffredini, H. B., et al, *Elect. Acta.* 2004, 4021, 49.

²¹ LOURENÇÃO, Bruna Cláudia. Determinação voltamétrica simultânea de paracetamol e cafeína em formulações farmacêuticas empregando um eletrodo de diamante dopado com boro. 2009. 140 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, 2009.