

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE
METILBROMETO DE HOMATROPINA EM PRODUTOS
FARMACÊUTICOS EMPREGANDO TURBIDIMETRIA EM FLUXO E
TITULAÇÃO CONDUTIMÉTRICA**

Larissa de Souza Canaes

Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do título
de MESTRE EM QUÍMICA (área de
concentração QUÍMICA ANALÍTICA)

Orientador: Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho

São Carlos – SP
2004

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

C212dm

Canaes, Larissa de Souza.

Desenvolvimento de métodos para determinação de metilbrometo de homatropina em produtos farmacêuticos empregando turbidimetria em fluxo e titulação condutimétrica / Larissa de Souza Canaes. -- São Carlos : UFSCar, 2004.

72 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2004.

1. Instrumentação. 2. Turbidimetria. 3. Condutimetria. 4. Metilbrometo de homatropina. 5. Análise por injeção em fluxo I. Título.

CDD: 543.07(20^a)

Dedico esse trabalho aos meus pais, Milton e Elizabete, pelo incentivo, apoio e carinho, pois sem eles este trabalho não teria sido realizado, e à minha irmã Taissa, pelo carinho, apoio e amizade.

Agradeço,

Ao Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho, pela oportunidade, orientação, incentivo, amizade e momentos de descontração no decorrer desses anos;

Aos Profs. Drs. Eduardo Fausto de Almeida Neves e Joaquim A. Nóbrega pelas sugestões durante o seminário de qualificação;

Aos amigos do LABBES, Oldair, Heberth, Evandro, Daniela, Karina, Willian, Renata, Luiz Humberto, Claudinéia, Cleones, Viviane, Geiser, Lucinéia, Maria Fernanda, Bruno, Bruna, Mirela e Ana Eliza pelos momentos de trabalho e descontração;

Às minhas tias, Izabel e Ozana, que sempre estão presentes em todas as etapas da minha vida;

Às minhas amigas, Tatiana e Raquel, pelos momentos de alegria e companheirismo;

Aos amigos dos demais laboratórios de química analítica do DQ, pelos momentos de descontração;

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiv
CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO	1
1.1- Alcalóides naturais.....	1
1.2- Derivados semi-sintéticos e sintéticos.....	2
1.3- Farmacocinética.....	3
1.4- Propriedades farmacológicas dos antimuscarínicos.....	5
1.4.1- Ação sobre o sistema nervoso central (SNC).....	5
1.4.2- Ação sobre os olhos.....	6
1.4.3- Ações cardíacas.....	7
1.4.4- Ação sobre o sistema circulatório.....	8
1.4.5- Ação sobre o trato gastrointestinal.....	8
1.4.6- Ação sobre o trato respiratório.....	9
1.4.7- Ação sobre o trato urinário.....	9
1.4.8- Trato biliar.....	9
1.4.9- Útero.....	9
1.4.10- Glândulas sudoríparas e temperatura.....	10
1.5- Indicações terapêuticas.....	10
1.5.1- Uso pré-operatório.....	10
1.5.2- Profilaxia da cinetosis (enjôos).....	10
1.5.3- Parkinsonismo.....	10
1.5.4- Uso oftalmológico.....	10
1.5.5- Ação gastrointestinal.....	11
1.5.6- Uso cardíaco.....	11
1.5.7- Antiasmático.....	11
1.6- Toxicologia.....	14
CAPÍTULO 2 – FUNDAMENTOS TEÓRICOS	15
2.1- Condutometria.....	15
2.2- Análise por injeção em fluxo.....	15
2.2.1- Métodos turbidimétricos em fluxo.....	17
2.3- Métodos para determinação de homatropina.....	22
CAPÍTULO 3 – PARTE EXPERIMENTAL	23
3.1- Reagentes e soluções.....	23
3.1.1- Solução de HCl 0,05 mol L ⁻¹	23
3.1.2- Solução estoque de metilbrometo de homatropina 500 mg L ⁻¹	23

3.1.3- Solução estoque de ácido silicotúngstico $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	23
3.1.4- Solução estoque de nitrato de prata $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	23
3.1.5- Preparação das amostras.....	24
3.2- Instrumentação.....	24
3.2.1- Medidas de massa.....	24
3.2.2- Medidas de pH.....	24
3.2.3- Medidas condutométricas.....	24
3.2.4- Espectrofotômetro.....	24
3.2.5- Bomba peristáltica.....	25
3.2.6- Tubos e conexões.....	25
3.2.7- Injetor comutador.....	25
3.2.8- Registrador.....	25
3.3- Procedimentos experimentais.....	26
3.3.1- Titulação condutométrica.....	26
3.3.2- Método comparativo da Farmacopéia Brasileira.....	26
3.3.3- Análise por injeção em fluxo empregando ácido silicotúngstico como reagente precipitante.....	26
3.3.3.1- Efeito da vazão.....	27
3.3.3.2- Efeito dos volumes das alças da amostra e do reagente.....	27
3.3.3.3- Efeito do comprimento do reator.....	27
3.3.3.4- Efeito da concentração da solução transportadora.....	27
3.3.3.5- Efeito da concentração do reagente.....	28
3.3.3.6- Diagrama esquemático do sistema de análise por injeção em fluxo empregando ácido silicotúngstico como reagente precipitante.....	28
3.3.4- Análise por injeção em fluxo empregando nitrato de prata como reagente precipitante.....	29
3.3.4.1- Efeito da vazão.....	29
3.3.4.2- Efeito dos volumes das alças da amostra e do reagente.....	30
3.3.4.3- Efeito do comprimento do reator.....	30
3.3.4.4- Efeito da concentração do reagente.....	30
3.3.4.5- Diagrama esquemático do sistema de análise por injeção em fluxo empregando nitrato de prata como reagente precipitante.....	30
CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4.1- Análise por injeção em fluxo empregando ácido silicotúngstico como reagente precipitante.....	32
4.1.1- Estudo dos parâmetros do sistema em fluxo.....	33
4.1.1.1- Efeito da concentração do transportador (ácido clorídrico)....	34
4.1.1.2- Efeito da concentração do reagente (ácido silicotúngstico)...	35
4.1.1.3- Efeito do volume da alça de amostragem.....	36
4.1.1.4- Efeito do volume de alça de reagente.....	37

4.1.1.5- Efeito do comprimento do reator.....	38
4.1.1.6- Efeito da vazão da solução da amostra.....	39
4.1.1.7- Efeito da vazão da solução do reagente.....	40
4.1.1.8- Efeito de surfactantes.....	42
4.1.2- Estudo da repetibilidade.....	43
4.1.3- Frequência de amostragem.....	43
4.1.4- Estudo do efeito de possíveis interferentes e teste de adição e recuperação.....	44
4.1.5- Aplicação analítica.....	45
4.2- Análise por injeção em fluxo empregando nitrato de prata como reagente precipitante.....	48
4.2.1- Estudo dos parâmetros do sistema em fluxo.....	49
4.2.1.1- Efeito da concentração do reagente (nitrato de prata).....	49
4.2.1.2- Efeito do volume de alça de amostragem.....	50
4.2.1.3- Efeito do volume de alça de reagente.....	51
4.2.1.4- Efeito do comprimento do reator.....	52
4.2.1.5- Efeito da vazão da solução da amostra.....	53
4.2.1.6- Efeito da vazão da solução do reagente.....	54
4.2.1.7- Efeito de surfactantes.....	56
4.2.2- Estudo da repetibilidade.....	56
4.2.3- Frequência de amostragem.....	57
4.2.4- Estudo do efeito de possíveis interferentes e teste de adição e recuperação.....	57
4.2.5- Aplicação analítica.....	58
4.3- Titulação condutométrica.....	61
4.3.1- Aplicação analítica.....	62
CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES.....	64
CAPÍTULO 6 – ALGUMAS SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS.....	66
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1- Drogas antimuscarínicas.....	3
Tabela 1.2- Concentrações plasmáticas de anticolinérgicos em seres humanos.....	5
Tabela 2.1- Principais métodos turbidimétricos em FIA descritos na literatura.....	21
Tabela 4.1- Resumo das condições finais estabelecidas.....	42
Tabela 4.2- Estudo de adição e recuperação de metilbrometo de homatropina em formulações farmacêuticas.....	44
Tabela 4.3- Determinação de metilbrometo de homatropina em formulações farmacêuticas pelo método turbidimétrico e o método comparativo.....	47
Tabela 4.4- Resumo das condições finais estabelecidas.....	56
Tabela 4.5- Estudo de adição e recuperação de metilbrometo de homatropina em formulações farmacêuticas.....	58
Tabela 4.6- Determinação de metilbrometo de homatropina em formulações farmacêuticas pelo método turbidimétrico e o método comparativo.....	60
Tabela 4.7- Determinação de metilbrometo de homatropina em formulações farmacêuticas pelo método condutométrico e o valor rotulado.....	62
Tabela 5.1- Tabela de comparação entre os três métodos.....	65

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1- Estruturas moleculares dos alcalóides naturais atropina e escopolamina.....	2
Figura 1.2- Fórmulas estruturais da atropina (A), homatropina (B) e metilbrometo da homatropina (C).....	4
Figura 1.3- Apresenta um esquema da estimulação ou bloqueio do sistema nervoso parassimpático.....	13
Figura 3.1- Diagrama esquemático do sistema de análises por injeção em fluxos com zonas coalescentes para a determinação turbidimétrica de metilbrometo de homatropina empregando-se o ácido silicotúngstico como reagente precipitante. C_2 = transportador do reagente $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ (HCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$); C_1 = transportador da amostra $3,9 \text{ mL min}^{-1}$ (HCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$); A = solução da amostra ou solução de referência; R = reagente (ácido silicotúngstico $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$); L_1 = alça do reagente ($125 \mu\text{L}$); L_2 = alça da amostra ($375 \mu\text{L}$); X = ponto de confluência; B = reator helicoidal (50 cm); E = espectrofotômetro ($\lambda = 410 \text{ nm}$) e D = descarte.....	29
Figura 3.2- Diagrama esquemático do sistema de análises por injeção em fluxos com zonas coalescentes para a determinação turbidimétrica de metilbrometo de homatropina empregando-se o nitrato de prata como reagente de precipitação. C_2 = transportador do reagente $2,0 \text{ mL min}^{-1}$; C_1 = transportador da amostra $3,9 \text{ mL min}^{-1}$; A = amostra ou solução de referência; R = reagente (nitrato de prata $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$); L_1 = alça do reagente ($25 \mu\text{L}$); L_2 = alça da amostra ($375 \mu\text{L}$); X = ponto de confluência; B = reator helicoidal (200 cm); E = espectrofotômetro e D = descarte.....	31
Figura 4.1- Estudo da sincronicidade. S, amostra (HCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$), com vazão de $3,9 \text{ mL min}^{-1}$ e R, solução reagente (hexacianoferrato de potássio (III) 0,01% m/v), com vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$	32
Figura 4.2- Espectros de absorção do MBH (metilbrometo de homatropina) $1,35 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, AST (ácido silicotúngstico) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e do par iônico formado $[\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_3 \cdot \text{CH}_3]_4[\text{Si}(\text{W}_3\text{O}_{10})_4]_{(s)}$	33

Figura 4.3 – Efeito da concentração da solução transportadora (ácido clorídrico) nas concentrações de 0,01 a 1,25 mol L⁻¹ para três concentrações de metilbrometo de homatropina 6,75 x 10⁻⁵; 1,35 x 10⁻⁴ e 2,02 x 10⁻⁴ mol L⁻¹, concentração do reagente ácido silicotúngstico 2,5 x 10⁻³ mol L⁻¹, alça de amostragem 250 µL, alça de reagente 125 µL, reator helicoidal de 100 cm, vazão do transportador da amostra e reagente 3,9 mL min⁻¹ e 2,0 mL min⁻¹ respectivamente 35

Figura 4.4 - Efeito da concentração da solução reagente nas concentrações de 2,5 x 10⁻⁴ a 8,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ sobre o sinal analítico para três concentrações de metilbrometo de homatropina 6,75 x 10⁻⁵; 1,35 x 10⁻⁴ e 2,02 x 10⁻⁴ mol L⁻¹, alça de amostragem 250 µL, alça de reagente 125 µL, reator helicoidal de 100 cm, vazão do transportador da amostra e reagente 3,9 mL min⁻¹ e 2,0 mL min⁻¹ respectivamente 36

Figura 4.5- Efeito do volume de alça de amostra de 50 a 750 µL sobre o sinal analítico para três concentrações de metilbrometo de homatropina 6,75 x 10⁻⁵; 1,35 x 10⁻⁴ e 2,02 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ com vazão de 3,9 mL min⁻¹, AST 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ com vazão de 2,0 mL min⁻¹, concentração de solução transportadora HCl 0,05 mol L⁻¹, alça de reagente 125 µL, reator 100 cm..... 37

Figura 4.6- Efeito do volume de alça de reagente de 50 a 500 µL sobre o sinal analítico para três concentrações de soluções de referência de metilbrometo de homatropina 6,75 x 10⁻⁵; 1,35 x 10⁻⁴ e 2,02 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ com vazão de 3,9 mL min⁻¹, com vazão de 2,0 mL min⁻¹, AST 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹, concentração de solução transportadora HCl 0,05 mol L⁻¹ alça de amostra 375 µL e reator 100 cm..... 38

Figura 4.7- Efeito do comprimento do reator de 30 a 200 cm sobre o sinal analítico para concentrações de metilbrometo de homatropina 6,75 x 10⁻⁵; 1,35 x 10⁻⁴ e 2,02 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ com vazão de 3,9 mL min⁻¹, AST 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ com vazão de 2,0 mL min⁻¹, concentração de solução transportadora HCl 0,05 mol L⁻¹, alça de amostra 375 µL e alça de reagente 125 µL..... 39

Figura 4.8- Efeito da vazão da solução transportadora da amostra sobre o sinal analítico para concentrações de metilbrometo de homatropina 6,75 x 10⁻⁵; 1,35 x 10⁻⁴ e 2,02 x 10⁻⁴ mol L⁻¹, AST 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹, concentração de solução transportadora HCl 0,05 mol L⁻¹, alça de amostra 375 µL, alça de reagente 125 µL e comprimento do reator 50cm..... 40

- Figura 4.9- Efeito da vazão da solução transportadora do reagente sobre o sinal analítico para três concentrações de soluções de referência, AST $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, concentração de solução transportadora HCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, alça de amostra $375 \mu\text{L}$, alça de reagente $125 \mu\text{L}$ e comprimento do reator 50 cm 41
- Figura 4.10- Estudo da repetibilidade do sistema em fluxo para soluções de metilbrometo de homatropina de $1,08 \times 10^{-4}$ e $1,62 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ 43
- Figura 4.11- Sinais transientes obtidos em triplicata para soluções de referência de metilbrometo de homatropina, $8,1 \times 10^{-5}$; $1,2 \times 10^{-4}$; $1,3 \times 10^{-4}$; $1,6 \times 10^{-4}$, $1,9 \times 10^{-4}$ e $2,2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e amostras A e B..... 45
- Figura 4.12- Curva analítica obtida no intervalo de concentração de metilbrometo de homatropina de $8,1 \times 10^{-5}$ a $2,2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ 46
- Figura 4.13- Espectros de absorção do MBH (metilbrometo de homatropina) $1,7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, nitrato de prata $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e do brometo de prata $\text{AgBr}_{(s)}$ 48
- Figura 4.14- Efeito da concentração da solução reagente (AgNO_3) nas concentrações de $2,5 \times 10^{-3}$ a $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ sobre o sinal analítico para três concentrações de soluções de referência e parâmetros citados anteriormente..... 50
- Figura 4.15- Efeito do volume de alça de amostra de 50 a $500 \mu\text{L}$ sobre o sinal analítico para três concentrações de soluções de referência, com vazão de $3,9 \text{ mL min}^{-1}$, AgNO_3 $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, alça de reagente $125 \mu\text{L}$ e reator 50 cm 51
- Figura 4.16- Efeito do volume de alça de reagente de $12,5$ a $500 \mu\text{L}$ sobre o sinal analítico para três concentrações de soluções de referência, com vazão de $3,9 \text{ mL min}^{-1}$, AgNO_3 $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, alça de amostra $375 \mu\text{L}$ e reator 50 cm 52
- Figura 4.17- Efeito do comprimento do reator de 30 a 220 cm sobre o sinal analítico para três concentrações de soluções de referência, AgNO_3 $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, alça de amostra $375 \mu\text{L}$ e alça de reagente $25 \mu\text{L}$ 53

Figura 4.18. Efeito da vazão do transportador da amostra sobre o sinal analítico para três concentrações de soluções de referência, AgNO_3 $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, alça de amostra de $375 \mu\text{L}$, alça de reagente de $25 \mu\text{L}$ e comprimento do reator de 200 cm	54
Figura 4.19- Efeito da vazão da solução do reagente sobre o sinal analítico para três concentrações de soluções de referência, AgNO_3 $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, alça de amostra de $375 \mu\text{L}$, alça de reagente de $25 \mu\text{L}$ e comprimento do reator de 200 cm	55
Figura 4.20- Estudo da repetibilidade do sistema em fluxo para soluções de metilbrometo de homatropina de $1,2 \times 10^{-3}$ e $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	57
Figura 4.21- Sinais transientes obtidos em triplicata para soluções de referência de metilbrometo de homatropina, $8,0 \times 10^{-4}$; $1,0 \times 10^{-3}$; $1,2 \times 10^{-3}$; $1,5 \times 10^{-3}$ e $1,7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e amostras A e B.....	59
Figura 4.22- Curva analítica obtida no intervalo de concentração de metilbrometo de homatropina de $8,0 \times 10^{-4}$ a $1,7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	60
Figura 4.23- Curva de titulação condutométrica de 10 mL de solução de metilbrometo de homatropina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ nitrato de prata $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, agitação de 200 rpm e temperatura de 25°C	61
Figura 4.24- Curva de titulação condutométrica de 10 mL de solução da amostra A com nitrato de prata $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. $V_{\text{eq}} = 10,2 \text{ mL}$	62
Figura 4.25- Curva de titulação condutométrica de 10 mL de solução da amostra B com nitrato de prata $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. $V_{\text{eq}} = 10,3 \text{ mL}$	63

RESUMO

Os compostos antimuscarínicos são drogas que atuam no sistema nervoso parassimpático sendo a atropina, escopolamina, eucatropina, homatropina e metilbrometo de homatropina (MBH) as mais amplamente usadas. Uma vez que essas drogas têm sido empregadas em diversas situações clínicas, tornou-se necessário o desenvolvimento de procedimentos analíticos simples, rápidos e eficazes para o monitoramento desses fármacos.

Nesta dissertação três procedimentos foram descritos para determinação de metilbrometo de homatropina em formulações farmacêuticas, dois em fluxo com detecção turbidimétrica e um com titulação condutimétrica.

No primeiro procedimento o metilbrometo de homatropina ($C_{16}H_{21}NO_3 \cdot CH_3Br$) reagiu com o ácido silicotúngstico ($H_4Si(W_3O_{10})_4$) formando um precipitado ($[C_{16}H_{21}NO_3 \cdot CH_3]_4[Si(W_3O_{10})_4]_{(s)}$) que foi monitorado em 410 nm. Foi utilizado 125 μL de uma solução de ácido silicotúngstico $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e um volume de amostra de 375 μL , a uma vazão de 2,0 mL min^{-1} e 3,9 mL min^{-1} respectivamente, inseridos em um transportador de HCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, neste sistema também utilizou-se um reator de 50 cm. A curva analítica apresentou linearidade de $8,1 \times 10^{-5}$ a $2,2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e a equação obtida foi $A = -0,17616 + 0,00662 [MBH]$, $r = 0,996$, onde A é a absorbância e [MBH] e a concentração molar de metilbrometo de homatropina. O limite de detecção (três vezes o desvio padrão do branco/inclinação da curva analítica) foi de $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e um desvio padrão relativo (RSD) para soluções de metilbrometo de homatropina com concentrações iguais a $1,08 \times 10^{-4}$ e $1,62 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. menor que 1,5 % ($n = 10$). Os índices de recuperação variaram de 96,0 a 103,0 %. O método foi empregado com sucesso na determinação desse fármaco em dois produtos farmacêuticos com uma frequência de amostragem de 70 h^{-1} . No segundo procedimento o metilbrometo de homatropina ($C_{16}H_{21}NO_3 \cdot CH_3Br$) reagiu com nitrato de prata ($AgNO_3$) formando um precipitado $AgBr_{(s)}$ que foi monitorado em 410 nm. Foi utilizado 25 μL de solução de nitrato de prata $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e um volume de amostra de 375 μL , a uma vazão de 2,0 mL min^{-1} e 3,9 mL min^{-1} respectivamente, inseridos no transportador (água). Nesse sistema utilizou-se um reator de 200 cm. A curva analítica apresentou linearidade de $8,0 \times 10^{-4}$ a $1,7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e a equação obtida foi $A = -0,978 + 1287,4$

[MBH], $r = 0,998$, onde A é a absorvância e [MBH] é a concentração molar de metilbrometo de homatropina. O limite de detecção (três vezes o desvio padrão do branco/inclinação da curva analítica) foi de $9,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e um desvio padrão relativo (RSD) para soluções de metilbrometo de homatropina com concentrações iguais a $1,2 \times 10^{-3}$ e $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ menores que 2,0 % ($n=10$) foram obtidos. A percentagem de recuperação variou de 94,9 a 104,0 %. O método foi empregado com sucesso na determinação desse fármaco em dois produtos farmacêuticos com uma frequência de amostragem de 75 h^{-1}

No procedimento condutométrico 10 mL de amostra ou solução de metilbrometo de homatropina ($\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_3 \cdot \text{CH}_3\text{Br}$) foram tituladas com nitrato de prata (AgNO_3) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, a 200 rpm e a 25°C . O limite de detecção foi de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Os métodos propostos se mostraram concordantes com o método oficial de análise.

ABSTRACT

Antimuscarinic compounds are drugs, which play important role on the central nervous system. The most widely used are atropine, escopolamine, homatropine and homatropine methylbromide. These drugs are utilized in several clinical situations, and, because of this, it is necessary to develop simple, fast and effective analytical procedures for the dosage of these pharmaceuticals.

In this work, three procedures for the determination of homatropine methylbromide in the pharmaceuticals were described: two with turbidimetric detection, and one with conductometric detection.

In the first procedure, the homatropine methylbromide ($C_{16}H_{21}NO_3 \cdot CH_3Br$) reacted with silicotungstic acid ($H_4Si(W_3O_{10})_4$) forming a precipitated ($[C_{16}H_{21}NO_3 \cdot CH_3]_4[Si(W_3O_{10})_4]_{(s)}$), which was measured at 410 nm. A volume of 125 μ L of the 1.0×10^{-3} mol L^{-1} silicotungstic acid solution and a sample volume of 375 μ L were introduced into a carrier at flow rates of 2.0 mL min^{-1} and 3.9 mL min^{-1} respectively and a tubular coiled reactor of 50 cm was used. A solution of 0.05 mol L^{-1} HCl was used to carry the sample and reagent solutions. The analytical curve was linear in the homatropine methylbromide concentration range from 8.1×10^{-5} to 2.2×10^{-4} mol L^{-1} ($r=0,996$), with a detection limit of 5.0×10^{-6} mol L^{-1} ($3\sigma_B$ /slope). Relative standard deviations (RSD) of smaller than 1.5% were obtained for the homatropine methylbromide solutions in the concentrations of 1.08×10^{-4} and 1.62×10^{-4} mol L^{-1} ($n=10$). Recoveries ranging from 96.0 to 103.0% were obtained. This method was applied in the determination of this drug in the pharmaceuticals, with a sample throughput of 70 h^{-1} . In the other flow injection procedure, the homatropine methylbromide ($C_{16}H_{21}NO_3 \cdot CH_3Br$) reacted with $AgNO_3$ forming a precipitated $AgBr_{(s)}$, which was measured at 410 nm. A volume of 25 μ L of the 1.0×10^{-2} mol L^{-1} $AgNO_3$ solution and a sample volume of 375 μ L were introduced into a carrier at flow rates of 2.0 mL min^{-1} and 3.9 mL min^{-1} respectively and a tubular coiled reactor of 50 cm was used. The analytical curve was linear in the homatropine methylbromide concentration range from 8.0×10^{-4} a 1.7×10^{-3} mol L^{-1} ($r=0,998$), with a detection limit of 9.5×10^{-5} mol L^{-1} ($3\sigma_B$ /slope). Relative standard deviations (RSD) smaller than 2.0% were obtained for 1.2×10^{-3} and 1.5×10^{-3} mol L^{-1} homatropine methylbromide solutions ($n=10$). Recoveries ranging from 94.9 a 104,0% were obtained. This method was applied in the determination of this

drug in the pharmaceuticals, with a sample throughput of 75 h^{-1} . In the final conductometric procedure, 10 mL of either the sample solution or the homatropine methylbromide solution ($\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_3 \cdot \text{CH}_3\text{Br}$) was titrated with $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ AgNO}_3$ at 200 rpm and 25°C . The LD was $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

CAPÍTULO 1-INTRODUÇÃO

1.1-Alcalóides naturais

Durante milênios são empregados extratos de plantas solanáceas como *Duboisia*, *Atropa* e *Datura*, muito ricas em alcalóides ativos. A rainha egípcia Cleópatra empregava em seus olhos um extrato de *Atropa* que produzia midríase (dilatação ou aumento do diâmetro da pupila). O nome de beladona (*Atropa belladonna*) deriva do suposto uso da preparação desse extrato por mulheres italianas para dilatação pupilar. Na Índia, a raiz e as folhas da erva de Jinson eram queimadas e a fumaça inalada para tratar asma. Os colonizadores britânicos observaram esse ritual e introduziram alcalóides de beladona na medicina ocidental no início do século XIX^{1,2}.

A atropina foi isolada pela primeira vez por Mein em 1831 e seus efeitos foram estudados principalmente durante a segunda metade do século XIX¹. Por muitos séculos, os povos antigos utilizaram preparados de beladona (*Atropa belladonna*), para diversos fins terapêuticos. Desta e de outras plantas isolaram-se, durante o século XIX, alguns alcalóides com atividade antimuscarínica (são drogas que antagonizam os efeitos muscarínicos da acetilcolina), especialmente atropina e escopolamina. A Atropina (*dl*-hiosciamina) é um alcalóide presente na *Atropa belladonna* e *Datura stramonium*; quimicamente é um éster racêmico da atropina e do ácido trópico, sendo o componente farmacologicamente ativo a forma "P". A escopolamina, alcalóide extraído da *Hyocyannus niger*, é o éster da escopina e ácido trópico. A pequena diferença química entre ambas, um grupo epóxi (Figura 1.1), é suficiente para determinar algumas diferenças em suas atividades, especialmente ao nível SNC (sistema nervoso central)².

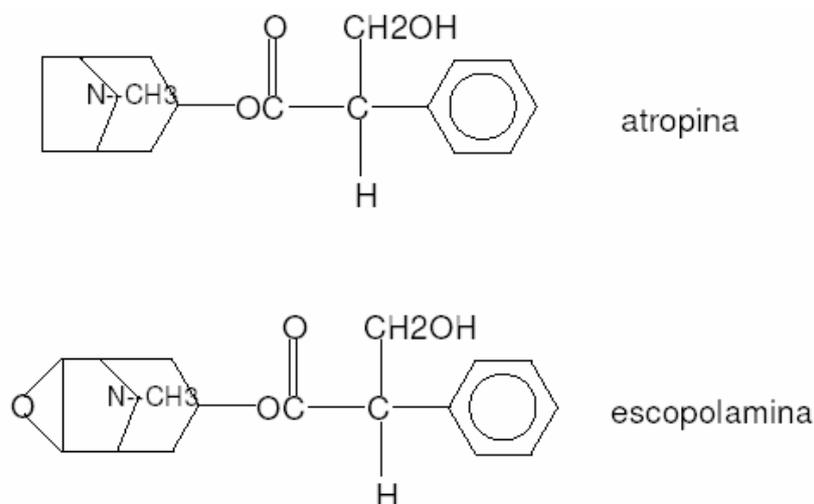


Figura 1.1- Estruturas moleculares dos alcalóides naturais atropina e escopolamina².

1.2-Derivados semi-sintéticos e sintéticos

A longa duração da ação da atropina estimulou os químicos-farmacêuticos a aplicarem o método de modificação molecular de forma a obter melhores agentes anticolinérgicos através de um dos seguintes processos: (a) simplificação, disjunção ou cisão da molécula de atropina com a finalidade de descobrir a porção espasmofórica; (b) inserção de grupos volumosos apolares, especialmente estruturas cíclicas, em moléculas de agentes colinérgicos; (c) substituição bioisostérica em outros anticolinérgicos. Essa estratégia sistemática enriqueceu o arsenal terapêutico com dezenas de anticolinérgicos úteis².

Os fármacos antimuscarínicos semi-sintéticos ou sintéticos são de estrutura química diversa, quase todos são ésteres com grupo aromático na molécula. Entre os semi-sintéticos destacam-se o ipratrópio e o oxitrópio derivados da atropina e da escopolamina respectivamente, ambos derivados contendo nitrogênio quaternário.

A existência de um nitrogênio terciário ou quaternário condiciona diferenças farmacocinéticas (item 1.3) na sua potência e também em sua ação ganglionar. Entre os fármacos com nitrogênio terciário destacam-se a diciclomina, homatropina, tropicamida, etc. Entre aqueles contendo nitrogênio quaternário, destacam-se o metilbrometo de hematropina, pinaverio, butilescopamina, isopropamida entre outros².

A Tabela 1.1 apresenta as principais drogas antimuscarínicas comercializadas no Brasil com os respectivos nomes químico e comercial.

Tabela 1.1-Drogas antimuscarínicas^{1,2}

Nome químico	Nome comercial
Atropina	Atrosedina, Lomotil e Vagostesil
Hioscina ou Escopolamina	Buscopan, Doralgin e Tropinal
Hiosciamina	Tropical
Ipratrópio	Atrovent
Oxitrópio	Spiriva
Extrato de beladona	Solvobil e Revulsan
Tintura de beladona	Cynarobil, Dolentol e Pó de estramônio
Metilbrometo de homatropina	Novatropina, Espasmodid, Flagassbaby, Migrane, Sedalêne, Tropinal
Isopropamida	Descon AP
Propantelina	Ansiline, Opossedin
Diciclomina	Benttyl, Kolantyl
Ciclopentolato	Cicloplégico
Tropicamida	Midriacyl

1.3. Farmacocinética

Fármacos que bloqueiam a atividade resultante da acetilcolina são conhecidos como anticolinérgicos, ou agentes bloqueadores colinérgicos. Eles podem atuar em diferentes locais, tais como: (a) nas terminações pós-ganglionares do sistema nervoso parassimpático (são os chamados antimuscarínicos, ou seja, antagonizam os efeitos muscarínicos da acetilcolina); (b) nas sinapses ganglionares do sistema nervoso autônomo, tanto simpático quanto parassimpático (trata-se dos ganglioplégicos) e (c) nas junções neuromusculares do sistema nervoso voluntário, é o caso dos bloqueadores neuromusculares^{1,2}.

As drogas antimuscarínicas mais amplamente usadas são a atropina, ciclopentolato, escopolamina, eucatropina, homatropina, metilbrometo de homatropina e tropicamida.

A Figura 1.2 apresenta as fórmulas estruturais da atropina, homatropina e metilbrometo de homatropina¹⁻³.

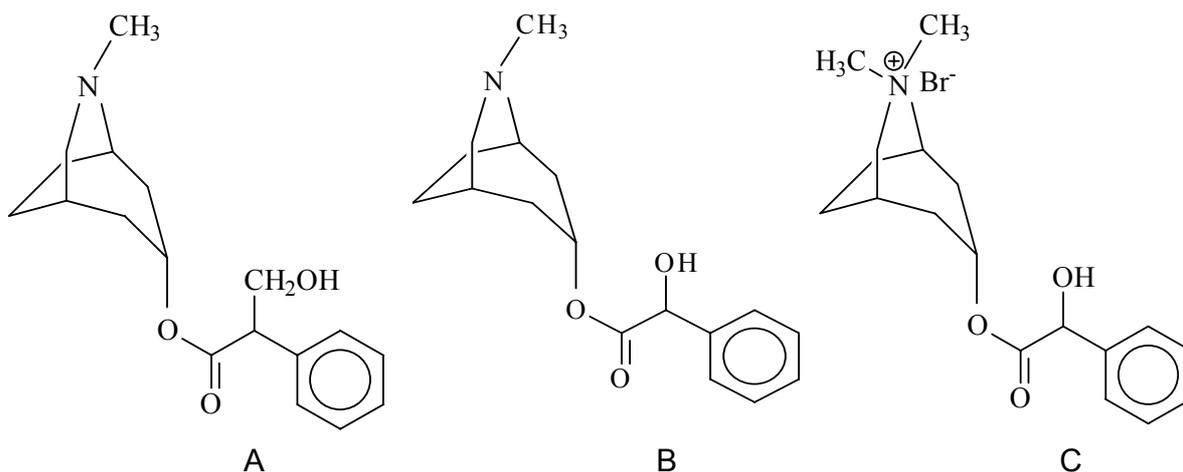


Figura 1.2- Fórmulas estruturais da atropina (A), homatropina (B) e metilbrometo da homatropina (C)¹⁻³.

O interesse nas ações das drogas antimuscarínicas sobre o estômago e intestino levou seu emprego como antiespasmódicos para distúrbios gastrointestinais e no tratamento da úlcera péptica¹.

A absorção da atropina ou da escopolamina no trato gastrointestinal é rápida ($t_{\max} = 1\text{h}$), uma vez que essas drogas possuem excelente absorção na mucosa do estômago e do intestino (Tabela 1.2)². Essas duas drogas difundem muito bem em todos os tecidos, atravessando as barreiras hematoencefálica, placentária e podem aparecer no leite. A atropina se une em média 50% com as proteínas do corpo, sua vida média é de 2,5 h e ela é eliminada durante as primeiras 12 h. Os derivados quaternários da atropina são pobremente absorvidos depois de administração de uma dose oralmente e penetram com dificuldade na barreira hematoencefálica².

Tabela 1.2-Concentrações plasmáticas de anticolinérgicos em seres humanos

Fármaco	Doses(μ g)	[CP](ng/mL) ¹	[CP]máx ² (ng/mL)
Atropina	400	0,4	0,9 (8 min)
Ciclopentolato	300 + 300	3,3	8,3 (5 a 15 min)
Escopolamina	100	0,2	0,5 (8 min)
Metilbrometo de homatropina	NE	NE	NE

1=concentração plasmática após 1 h e 2= concentração máxima no tempo indicado; NE= não encontrado

1.4-Propriedades farmacológicas dos antimuscarínicos¹⁻⁴

Atropina e escopolamina diferem quantitativamente em suas ações antimuscarínicas, particularmente em sua capacidade de afetar o SNC. A atropina quase não tem efeitos detectáveis sobre o SNC em doses clínicas. Em contraste, a escopolamina tem efeitos centrais proeminentes em doses terapêuticas baixas. A base desta diferença parece estar que na escopolamina tem uma maior permeabilidade sobre a barreira hematoencefálica. Assim, a atropina é usada preferencialmente para muitos propósitos em que se objetiva evitar efeitos centrais. Quando algum efeito depressor central é desejado, como na medicação pré-anestésica, a escopolamina é administrada freqüentemente. Por exemplo, na obstetrícia, a escopolamina é indicada por seus efeitos sedativos e amnésicos.

1.4.1. Ação sobre o Sistema Nervoso Central (SNC)

A atropina em doses terapêuticas (0,5 a 1,0 mg) só causa discreta excitação vagal decorrente da estimulação bulbar e de centros cerebrais mais altos. A freqüência e, ocasionalmente, a amplitude respiratória aumenta, mas esse efeito provavelmente decorre de dilatação bronquiolar com subseqüente aumento no “espaço morto” fisiológico. Com doses tóxicas de atropina, a excitação central se acentua levando a inquietação, irritabilidade, desorientação, alucinação ou delírio. Com doses ainda maiores, a estimulação é seguida de depressão, levando a colapso circulatório e insuficiência respiratória após um período de paralisia e coma.

A escopolamina em doses terapêuticas normalmente causa sonolência, amnésia, fadiga e euforia em algumas pessoas. Os efeitos depressores são algumas vezes desejados quando a escopolamina é usada em associação com agentes anestésicos e como medicação pré-anestésica. Contudo na presença de dor importante, as mesmas doses de escopolamina ocasionalmente geram excitação, inquietação, alucinação ou delírio. Estes efeitos excitatórios, que se assemelham aos de doses tóxicas de atropina, ocorrem regularmente após doses altas de escopolamina.

1.4.2. Ação sobre os olhos

Considerando que o corpo ciliar está composto por um epitélio que secreta o humor (qualquer líquido contido em um corpo organizado) aquoso pelo músculo ciliar que controla a acomodação, regulando a convexidade do cristalino, que permite a focalização dos objetos. As variações do estado contrátil do músculo do esfíncter da íris, que por sua vez, dará origem a miosi e a midríase.

As drogas atropínicas bloqueiam as respostas da estimulação colinérgica do esfíncter muscular da íris e do músculo ciliar, dilatando a pupila (midríase) e paralisando a acomodação (cicloplegia), com o surgimento de fotofobia e visão embaçada.

Estes efeitos podem ocorrer por administração local ou sistêmica; todavia, doses convencionais de atropina (0,6 mg) têm pouco efeito ocular. A administração de escopolamina em doses similar causa midríase e cicloplegia.

A aplicação local de atropina produz efeitos que duram de 7 a 10 dias. Isto faz que seu uso oftalmológico seja pouco prático. Todavia, se usa em crianças com esotropia de acomodação e para romper aderências (sinequia - aderência entre partes vizinhas, especialmente a da íris com a córnea ou o cristalino) entre a íris e o cristalino, mediante sucessivas miosi (pilocarpina) e midríase. A escopolamina induz efeitos menos duradouros, de 3 a 7 dias. Ambos alcalóides (como também antidepressivos tricíclicos, antiscópticos e antihistamínicos H₁), podem causar incrementos perigosos da pressão intraocular em pacientes com glaucoma de ângulo estreito ou fechado, ou com predisposição anatômica a este. Não há contra-indicação para pacientes com glaucoma de ângulo aberto.

É freqüente que o tratamento do glaucoma se utilizem, entre outros fármacos, colinérgicos que podem produzir efeitos indesejáveis e inclusive tóxicos. O espasmo do corpo ciliar é um efeito colinérgico muscarínico que pode conduzir a miopia induzida. Podem ocorrer cefaléias por contração da íris e do corpo ciliar. Em ambos os casos, os efeitos muscarínicos são revertidos pelo ciclopentolato, ou atropina se deseja um efeito mais prolongado.

Na inflamação da úvea (camada pigmentada da íris), ou uveíte (inflamação da úvea), que dependem grandemente do espasmo do corpo ciliar, pode ser tratada também com ciclopentolato. O sulfato de atropina 1% m/v é útil na correção do estrabismo amblióptico ao induzir cicloplegia no olho com visão reduzida.

Para propósitos diagnósticos no exame clínico de fundo de olho e alguns procedimentos cirúrgicos, é desejável aumentar o máximo possível o diâmetro da pupila para inspecionar visualmente o cristalino e a retina. Os fármacos geralmente usados nestas manobras são a atropina, escopolamina, homatropina, ciclopentolato e tropicamida, sozinhos ou em combinação com agonistas α -adrenérgicos.

1.4.3. Ações cardíacas

Os efeitos cardiovasculares das drogas antimuscarínicas têm aplicação clínica limitada. Em geral, esses agentes são usados nas unidades coronarianas para intervenções em curto prazo. A atropina é um antídoto específico para o colapso cardiovascular que pode resultar da administração não-racional de um éster da colina ou de um inibidor da colinesterase.

O efeito principal da atropina no coração é a alteração da freqüência cardíaca. Ainda que a resposta dominante é a taquicardia, a freqüência cardíaca muitas vezes cai transitoriamente com doses clínicas intermediárias (0,4 a 0,6 mg).

Os dados sugerem que esta diminuição leve da freqüência se produz por bloqueio dos receptores M_1 dos neurônios parassimpáticos pós-ganglionares, cuja função é inibir a liberação de acetilcolina; o bloqueio M_1 desinibirá esta liberação.

Doses maiores de atropina causam uma taquicardia. A freqüência cardíaca de uma pessoa jovem ao qual se aplicam 2 mg de atropina intramuscular, aumenta entre 35 e 40 batimentos por minuto. Na criança e nos idosos, tem uma maior e menor

resposta vagal respectivamente, as respostas cardíacas a iguais doses de atropina que no adulto são diferentes.

Com baixas doses de escopolamina (0,1 a 0,2 mg) a lentidão cardíaca é maior com atropina. Com doses maiores, se observa inicialmente uma cárdio aceleração, mas tem pouca duração e antes de 30 minutos a freqüência volta ao valor normal, ou melhor, se observa bradicardia.

1.4.4. Ação sobre o sistema circulatório

Quando é administrada apenas atropina no paciente, não há efeito significativo nem constante sobre a pressão arterial. Isto se explica porque são escassos os efeitos vasculares que possuem inervação parassimpático. As doses altas podem produzir dilatação dos vasos sanguíneos cutâneos, originando rubor e calor através de mecanismos ainda não elucidados.

1.4.5. Ação sobre o trato gastrintestinal

Inibem a secreção salival e ressecam a boca (serostomia), dificultando a deglutição e a fala. São utilizados como agentes antiespasmódicos e para o tratamento da úlcera péptica. Afetam o tono (estado normal de resistência e elasticidade de um tecido ou órgão) e a motilidade. Também inibem a secreção gástrica, mas no caso da atropina, em concentrações que induzem efeitos indesejáveis sobre outros sistemas. Os efeitos são maiores sobre o intestino delgado que sobre o estômago. Para evitar os efeitos indesejáveis da atropina, foi sintetizado fármaco de maior especificidade.

Um fármaco mais recentemente desenvolvido, a pirenzepina, pode reduzir o volume gástrico e a secreção de pepsina em doses que produzem efeitos adversos mínimos, sendo o mais comum o ressecamento da boca. A pirenzepina é mais efetiva no tratamento de úlceras que a atropina.

1.4.6. Ação sobre o trato respiratório

A atropina e outros alcalóides da beladona e substitutos reduzem a secreção tanto no trato respiratório superior quanto no inferior. Esse efeito na nasofaringe pode oferecer algum grau de alívio sintomático na rinite aguda associada com a coriza e febre do feno, mas este tratamento não afeta a história natural desta afecção. É provável que a contribuição dos anti-histamínicos empregados em associações antigripais se deva basicamente às suas propriedades antimuscarínicas, exceto nos quadros com base alérgica.

Os alcalóides da beladona podem induzir dilatação brônquica e outrora eram usados rotineiramente como remédios para a asma brônquica.

1.4.7. Ação sobre o trato urinário

Atropina em doses de 1,2 mg dilata os cálices e bexiga. Exerce menos efeito sobre os ureteres. Sua ação provoca o relaxamento da bexiga e facilita a concentração do esfíncter externo, favorecendo a retenção urinária. Este efeito resulta em prejuízo no caso de hipertrofia prostática ou de retenção urinária prévia.

1.4.8. Trato biliar

A atropina exerce uma ação antiespasmódica sobre a vesícula e dutos biliares. Contudo, este efeito é suficiente para suplantar ou evitar as cólicas biliares.

1.4.9. Útero

A atropina e a escopolamina não tem efeitos significativos sobre o útero humano. O músculo uterino é innervado por fibras parassimpáticas, mas o efeito de impulsos colinérgicos sobre a contração uterina é variável.

1.4.10. Glândulas sudoríparas e temperatura

Baixas doses de atropina ou escopolamina inibem a atividade das glândulas sudoríparas pelo qual a pele se seca e aquece. Nas crianças, doses moderadas de alcalóides de *Atropa belladonna* podem induzir uma “febre atropínica”, na qual a temperatura pode chegar até 43°C ou mais.

1.5. Indicações terapêuticas¹⁻⁴

1.5.1. Uso pré-operatório

Preparação do paciente durante a pré-medicação anestésica pela redução das secreções aéreas e salivação excessiva. Ademais, evita-se o laringoespasma, a bradicardia reflexa em crianças durante a cirurgia.

1.5.2. Profilaxia da cinetosis (enjôos)

A escopolamina transdermal de liberação lenta (3 dias) é tão eficaz como o dimenhidrato oral e é menos sedante; contudo, os pacientes podem apresentar visão distante e embaçada.

1.5.3. Parkinsonismo

Os anticolinérgicos atuam a nível central e se utilizam como complemento da levodopa. Melhoram o tremor e a rigidez muscular, diminuindo ademais a característica sialorréia (aumento mórbido da secreção salivar).

1.5.4. Usos oftalmológicos

Os antimuscarínicos têm indicação para seu uso na exploração do cristalino, fundo do olho, iriti (inflamação da membrana íris) aguda, iridociclitis (processo

inflamatório da íris e do corpo ciliar), na queratite, coroidite e no pós-operatório de cataratas, além do destacado anteriormente.

1.5.5. Ação gastrointestinal

Essas drogas são administradas para controlarem irritação do cólon, controlar a diarreia e a disenteria leve, em diarreias por diverticulite, processos infecciosos e medicamentosos.

1.5.6. Uso cardíaco

A atropina se administra após infarto do miocárdio quando a frequência diminui para frequências menores ou iguais a 60 batimentos/minuto e a bradicardia se associa a hipertensão ou arritmia.

1.5.7. Antiasmático

Para certos tipos de asma se utiliza por sua ação tópica o brometo de ipratrópio. Os antimuscarínicos têm um melhor resultado no tratamento das enfermidades obstrutivas pulmonares crônicas.

A Figura 1.3 apresenta um esquema da estimulação ou bloqueio do sistema nervoso parassimpático⁵. Como apresentado, esse sistema nervoso regula os processos relacionados com a absorção (alimentação, digestão e absorção) e armazenamento de energia. Estes fenômenos ocorrem durante o repouso corporal, de forma que são suficientes volume respiratório mínimo (os brônquios são contraídos) e baixa atividade cardíaca. As secreções salivares e intestinais servem para a digestão dos alimentos, o transporte do conteúdo intestinal acelera-se devido ao aumento do peristaltismo e à diminuição do tônus dos músculos esfinterianos. Para o esvaziamento (micção), pode ser aumentado o tônus da parede da bexiga e diminuído o tônus do esfíncter vesical. A estimulação das fibras nervosas do parassimpático leva a contração da pupila e ao aumento da convexidade do cristalino, de forma que os objetos mais próximos são melhor focalizados (acomodação).

A estimulação do parassimpático provoca nas sinapses, entre a fibra pós-ganglionar (o 2º neurônio) e as células efectoras, a liberação da acetilcolina. Os efeitos estão reunidos no circuito em azul. Com a utilização dos parassimpaticomiméticos são obtidos alguns efeitos terapêuticos úteis. Fármacos que atuam de forma antagonista no receptor muscarínico da ACh são denominados de parassimpaticolíticos (p. ex., o alcalóide atropina: efeitos assinalados em vermelho no quadro). Seu efeito terapêutico é dificultado pela escassa seletividade. As possibilidades para uma ação mais seletiva compreendem:

- uso local;
- escolha de fármacos com maior permeabilidade através da membrana;
- administração de fármacos com seletividade por subtipos de receptores .

Os parassimpaticolíticos podem ser empregados terapêuticamente para inibir as secreções glandulares, relaxar a musculatura lisa, acelerar a atividade cardíaca e inibir o sistema nervoso central, como pode ser observado na Figura 3.

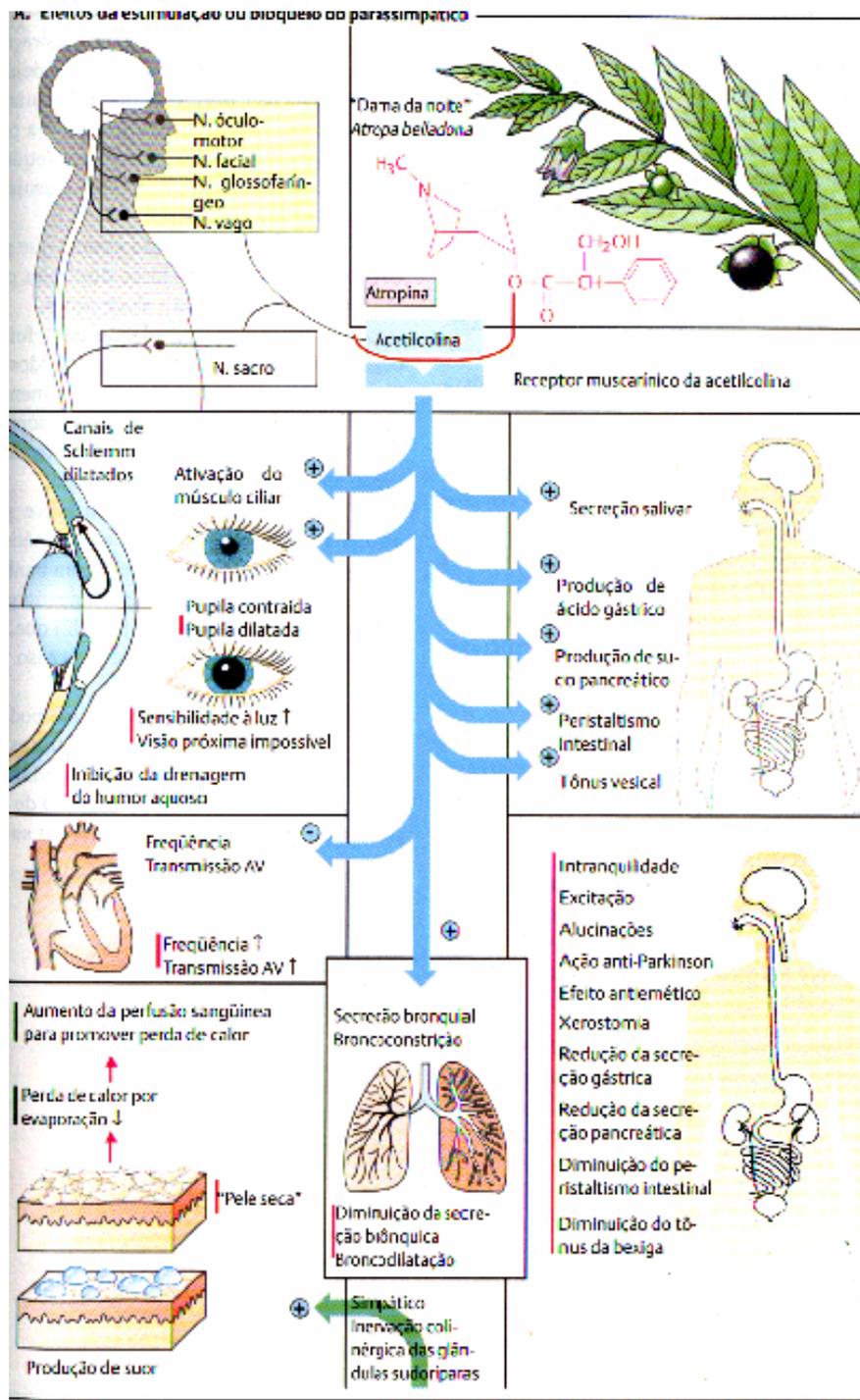


Figura 1.3 -Esquema da estimulação ou bloqueio do sistema nervoso parassimpático⁵.

1.6-Toxicologia^{6,7}

Como discutido, a homatropina é um composto semi-sintético derivado da atropina, no qual é adicionado um segundo radical metila, originando o metilbrometo de homatropina. É dez vezes menos potente do que a atropina na ação muscarínica e quatro vezes mais potente como agente de bloqueio ganglionar. Pode ter um melhor uso terapêutico do que a atropina pois apresenta menos efeitos tóxicos sobre o sistema nervoso central (SNC), mesmo com doses maiores, pois tem mínima capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica. É utilizada, freqüentemente, em distúrbios gastrointestinais como antiespasmódico, agindo diretamente sobre o músculo liso. A dose para adultos, por via oral, é 12 a 16 mg/kg dia e na criança é 0,1 mg/kg dia. Pode determinar como efeitos adversos: rubor facial, constipação, retenção urinária, diminuição da sudorese e da secreção lacrimal, secura na boca, irritabilidade, dilatação pupilar, entre outros sintomas dependentes da ação anticolinérgica.

Rengstorff & Doughty⁶ relataram as possíveis complicações neurológicas determinadas pelo uso oftalmológico de cicloplégicos e midriáticos (incluindo a homatropina). A sintomatologia inclui desde cefaléia, tremor, fraqueza e sonolência, até confusão, alucinação, disartria (dificuldade na articulação das palavras, resultante de perturbação nos centros nervosos), ataxia (falta de coordenação dos membros do corpo), crises epilépticas, coma e morte. Tune *et al*⁷ chamam a atenção dos oftalmologistas para a possibilidade de ocorrerem manifestações de intoxicação do SNC, determinando quadro de delírio prolongado, alucinações, disartria e mania, com o uso tópico ocular de homatropina, mesmo em concentrações a 5 % m/v.

CAPÍTULO 2- FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1-Conduťometria⁸

A conduťometria ou análise conduťimétrica se baseia em medições de conduťância elétrica das soluťões iônicas. Essa conduťância resulta da soma da contribuição individual de cada íon presente na soluťão, assim ela depende do número ou concentração dos íons presentes na soluťão, bem como das cargas e mobilidades dos íons. Como a conduťância elétrica de uma soluťão é a soma das conduťâncias individuais dos ânions e cátions em soluťão, essa técnica não é seletiva. A Conduťometria abrange duas técnicas analíticas: a conduťometria direta e a titulação conduťométrica (método indireto). Nessa dissertação de mestrado foi empregada titulação conduťométrica do metilbrometo de homatropina empregando-se ácido silicotúngstico, quando se titulou o cátion desse fármaco ou nitrato de prata, quando se titulou o ânion brometo do fármaco.

2.2. Análise por injeção em fluxo

A análise química por injeção em fluxo contínuo (FIA) pode ser definida como um processo de automatização de procedimentos analíticos, onde é introduzido um volume discreto e reprodutível da amostra em um fluxo transportador não segmentado, que continuamente flui em direção ao detector. Durante o transporte, a amostra se dispersa e pode receber reagentes por confluência, sofrer reações químicas e passar por etapas de separação e/ou concentração, gerando uma “zona de amostra” de um produto adequado para a quantificação. Ao atingir o detector, a zona de amostra origina um sinal transiente resultante do gradiente de concentração gerado durante o transporte na soluťão transportadora em fluxo contínuo^{9,10}.

O termo “Flow Injection Analysis” foi introduzido na literatura através do trabalho pioneiro desenvolvido por Ruzicka & Hansen em 1975, este deve ser considerado como o ponto de partida desta metodologia¹¹.

No Brasil, os sistemas FIA começaram a ser introduzidos mediante a colaboração científica entra a Agência Internacional de Energia Atômica, de Viena e o

Centro de Energia Nuclear na agricultura (CENA) da Universidade de São Paulo, campus de Piracicaba, que permitiu a permanência de J. Ruzicka por um ano no CENA, o qual, em trabalho conjunto com os pesquisadores da Seção de Radioquímica e Química Analítica, instalou o primeiro sistema FIA a ser utilizado para análises rotineiras.

A partir de 1977 e especialmente nas duas décadas seguintes, ocorreu um desenvolvimento muito rápido da metodologia FIA em muitos países, com conseqüente expansão dos conceitos envolvidos, o que culminou com o aparecimento de analisadores FIA comercialmente disponíveis¹¹. Isto ocorreu devido às suas diversas vantagens, como simplicidade na instrumentação, economia no consumo de amostra/reagentes, eliminação de algumas possibilidades de contaminação, uso de produtos e/ou reagentes instáveis, diminuição da manipulação das amostras por parte do analista, melhor precisão e diminuição do custo operacional e aumento na velocidade de processamento.

Os sistemas em fluxo (FIA) podem ser divididos em quatro partes: propulsão dos fluidos, injeção da amostra, reação e detecção.

Na maioria dos casos, a unidade de propulsão é constituída por uma bomba peristáltica, a qual deve possuir um torque suficiente para manter a vazão constante, mesmo que ocorram variações na impedância hidrodinâmica do sistema. Outras formas de propulsão incluem as bombas tipo seringa, de pistão, através de pressão por gases e mesmo por gravidade. Sua função é movimentar constante e uniformemente os reagentes, amostras e fluídos transportadores. No caso de se utilizar uma bomba peristáltica é necessário uma escolha criteriosa dos tubos de propulsão, estes, variam de acordo com o tipo de solução empregada, sejam solventes (tubos de Viton[®]) ou soluções aquosas (tubos de Tygon[®]). A vazão também varia de acordo com o diâmetro interno do tubo.

A injeção da amostra é feita através de um dispositivo, injetor, fundamental no sistema FIA, é utilizado para introduzir um volume discreto e reprodutível de uma amostra em um fluxo de reagentes ou de um carregador adequado. Diversos tipos de injetores são relatados na literatura, porém os mais comuns são os de válvula rotatória desenvolvido por Ruzicka & Hansen⁹ e o injetor proporcional desenvolvido por pesquisadores do CENA-USP¹².

O dimensionamento do percurso analítico, onde ocorrem as reações químicas necessárias à detecção da espécie de interesse, deve levar em conta o tempo de residência da amostra, e portanto, as vazões do transportador e dos reagentes, que estão intimamente ligadas à frequência de amostragem. O aumento do percurso analítico implica na diminuição do sinal analítico, o que ocorre devido ao processo de dispersão. Em casos onde a cinética de reação é lenta, o ganho de sinal ao passo que a reação ocorre pode ser maior que a perda por dispersão, o que justifica um percurso analítico maior apesar da diminuição da frequência de amostragem. Outro aspecto importante deve ser ressaltado em sistemas FIA com vazão constante, é que o tempo de residência é exatamente o mesmo para amostras e padrões, podendo-se executar as medidas sem que a reação se complete. Isso facilita no caso de reações mais lentas, onde o tempo necessário para que a reação se complete seria um ponto negativo em se considerar a diminuição da frequência de amostragem.

Com relação à unidade de detecção podem ser empregados praticamente todos aqueles usuais em química analítica como os espectrofotômetros no UV-Vis, espectrômetros de absorção atômica, potenciômetros, condutivímetros, espectrômetro de emissão com plasma entre outros.

2.2.1-Métodos turbidimétricos em fluxo¹³⁻²⁸

Turbidimetria e nefelometria são métodos que se baseiam na determinação de um analito de interesse na forma de um composto insolúvel em suspensão. Ambos os métodos dependem do espalhamento elástico da luz quando um feixe de luz passa através de uma solução contendo o material particulado em suspensão.

Assim, nos métodos turbidimétricos o decréscimo da intensidade de luz em função da concentração do material particulado em solução é determinado medindo-se a radiação transmitida em uma cela contendo a amostra com o detector posicionado na mesma direção da luz incidente (ângulo de 0°).

Por outro lado, nos métodos nefelométricos a luz espalhada é medida sendo então o detector posicionado geralmente a um ângulo de 90° em relação ao feixe de luz incidente na cela contendo as partículas em suspensão. A turbidimetria é o método mais indicado quando se trabalha com concentrações elevadas das partículas em

suspensão. Nesse caso, um simples espectrofotômetro poderá ser empregado nessas determinações. Quando a concentração das partículas em suspensão é baixa (suspensões diluídas com concentrações menores ou iguais a 100 mg L^{-1}) emprega-se a nefelometria. Em ambos os métodos para que se tenha uma boa repetibilidade dos resultados, há necessidade de se controlar rigorosamente a granulometria das partículas, selecionando-se as concentrações de analito e reagente, velocidade de mistura dessas soluções, concentração de outras espécies ou compostos químicos presentes (especialmente protetores de colóides como gelatina, goma-arábica, dextrinas, glicóis, PVC, álcool polivinílico etc) e temperatura¹³.

O desenvolvimento de métodos turbidimétricos ou nefelométricos de análises têm revelado que as dificuldades nesses tipos de sistemas estão mais relacionadas à manipulação das soluções do que com o desempenho das medidas instrumentais. Como discutido, qualquer variação na preparação da solução coloidal (partículas em suspensão contendo o analito de interesse) pode resultar na falta de uniformidade no tamanho das partículas formadas de uma determinação para outra. Como a dispersão da luz é dependente do tamanho das partículas, bem como da sua concentração e velocidade de formação, o desempenho do método analítico poderá ser comprometido¹⁴. Esta falta de uniformidade no tamanho das partículas limitou bastante o desenvolvimento de métodos turbidimétricos até a introdução dos sistemas FIA proposto por Ruzicka & Hansen¹⁵ e por Stewart *et al*¹⁶, pois os sistemas FIA são considerados como poderosos manipuladores de soluções.

O primeiro procedimento analítico envolvendo turbidimetria foi apresentado por Wells, *apud* WEIMARN¹⁷ Esse procedimento apresentou diversos problemas devido à complexidade do fenômeno e dificuldades inerentes aos sistemas manuais de análises. Em 1957, Skeggs¹⁸ propôs o primeiro método turbidimétrico automatizado. Neste método, inseriu-se no sistema amostras contendo sulfato em fluxo segmentado com bolhas de ar. Esta segmentação era realizada pela entrada de bolhas de ar no sistema as quais eram retiradas antes de atingirem a célula de fluxo.

Krug *et al*¹⁹ adaptaram pioneiramente o método turbidimétrico em um sistema de análise por injeção em fluxo, determinando sulfato em águas naturais e digeridos de plantas, pela precipitação desse ânion com íons bário. O método apresentou uma linearidade em uma faixa de concentração de sulfato de 40 a 140 mg L^{-1} com uma frequência de amostragem de 180 h^{-1} . Entretanto, após algumas determinações, a

adsorção do precipitado ($\text{BaSO}_4(\text{s})$) nas paredes das tubulações e da célula em fluxo, levou a oscilações na linha de base e aumento no tempo de limpeza do sistema. Posteriormente em um outro trabalho, Krug *et al*²⁰ modificaram o diagrama de fluxos e as condições reacionais do sistema para contornar e/ou minimizar os problemas anteriores. Neste sistema, a amostra foi injetada no fluido transportador a qual foi misturada com uma solução de cloreto de bário para formar uma suspensão de sulfato de bário. O método foi estendido para baixas concentrações de sulfato, pela contínua adição de sulfato no fluido carregador. O desempenho deste sistema foi melhorado pela adição de uma solução alcalina contendo EDTA. O método FIA proposto apresentou uma frequência de amostragem de 120 h^{-1} com um desvio padrão relativo menor do que 1% para concentrações de sulfato variando de 1 a 200 mg L^{-1} .

Uma revisão dos métodos turbidimétricos em sistemas de análise por injeção em fluxo foi feita por Brienza *et al*²¹. Neste trabalho, discutiu-se as potencialidades e limitações dos métodos turbidimétricos com ênfase na taxa de nucleação e aplicações dos métodos desenvolvidos. Nesta revisão, pode ser observado que alguns procedimentos turbidimétricos têm sido propostos para alguns íons (cátions e ânions) e compostos orgânicos. A Tabela 2.1 apresenta alguns trabalhos discutidos nessa revisão, como também alguns procedimentos em fluxo com detecção turbidimétrica selecionados da literatura. Há diversos procedimentos em fluxo para determinação de sulfato descritos na literatura, mas como mencionado nessa tabela, apresentar-se-ão alguns destes trabalhos publicados.

Brienza *et al*²² desenvolveram um método para determinação de sulfato em digestos de plantas utilizando cloreto de chumbo como agente precipitante. Nesse método, uma suspensão de fosfato de chumbo foi adicionada em linha para melhorar as condições de supersaturação e crescimento dos cristais. O método apresentou uma frequência de amostragem de 400 h^{-1} para concentrações de sulfato variando de 5 a 25 mg L^{-1} , não sendo necessário a utilização de protetores coloidais para a limpeza do sistema e minimização de oscilações na linha de base.

Um método FIA baseado na formação de uma suspensão de sulfato de chumbo para determinação de sulfato em águas naturais foi proposto por Santelli *et al*²³. Com o intuito de melhorar a sensibilidade do método, utilizou-se como meio reacional uma mistura de etanol-água. Um limite de detecção de $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ foi encontrado com uma

freqüência de amostragem de 35 h^{-1} um intervalo de concentração de sulfato de 2 a 20 mg L^{-1} .

Martínez-Calatayud *et al*²⁴ desenvolveram um método turbidimétrico em fluxo para determinação de clorhexidina utilizando como agente precipitante azul de timol. A curva analítica foi linear em um intervalo de concentração de clorhexidrina entre 10,5 a 65 mg L^{-1} com uma freqüência de amostragem de 53 h^{-1} .

Tubino & Torres²⁵ desenvolveram um método turbidimétrico em fluxo para determinação de potássio em água mineral e solução de soro para re-hidratação utilizando-se como agente precipitante solução de tetrafenilborato de sódio e glicerol como protetor coloidal. O método apresentou uma freqüência de amostragem de 60 h^{-1} , um desvio padrão relativo menor que 1% e uma linearidade para concentrações de potássio de 0 a 8 mg L^{-1} .

Um método turbidimétrico em FIA para determinação de amitriptilina foi proposto por Martínez-Calatayud *et al*²⁶. O método baseia-se na precipitação da amitriptilina com o roxo de bromocresol. Uma freqüência de amostragem de 39 h^{-1} foi obtida com uma linearidade de 30 a 200 mg L^{-1} e nesse procedimento não houve necessidade do uso de protetores coloidais.

Nosso grupo de pesquisa já possui alguma experiência em procedimentos de análises por injeção em fluxo com detecção turbidimétrica. Recentemente, desenvolveu-se um procedimento FIA para determinação de tiamina (vitamina B₁) em complexos multivitaminicos²⁷ e outro sistema para determinação de fosfato em digeridos de plantas²⁸.

Tabela 2.1 – Principais métodos turbidimétricos por injeção em fluxo descritos na literatura

Análito	Amostra	Reagente(s)	Linearidade	FA (h ⁻¹)	Ref.
Ác. ascórbico	Frutas e prod. farm.	HgCl ₂	3-120 mg/L	-	29
Amitriptilina	Prod. farm	Púrpura de bromocresol	30-200 mg/L	39	26
Amônio	solo	Nessler	0,5-8,0 mg/L	-	21
Cálcio	Águas	Na ₂ (C ₂ O ₄)/glicerol	-	-	21
Carbono orgânico	Efluente industrial	Ba(OH) ₂	20-800 mg C/L	120	30
Cloreto	Águas	AgNO ₃	5-50 mmol/L	-	23
Cloreto	Águas	AgNO ₃	-	-	31
Clorohexidina	Prod. farm.	Verde de bromocresol	23-84 mg/L	60	32
Clorohexidina	Prod. farm.	Azul de timol	10,5-63,0 mg/L	53	24
Difenildramina	Prod. farm.	Azul de bromofenol	50-230 mg/L	51	33
Enxofre total	Plantas	Pb ₃ (PO ₄) ₂	2-20 mg/L	35	23
Fenformin	Prod. farm.	Na ₂ WO ₄	120-222 mg/L	67	34
Fosfato	Plantas	Zn(II)/PVA	5-60 mgP/L	180	28
Levamisol	Prod. farm.	Hgl ₄ ²⁻	7-32 mg/L	80	35
Nitrogênio total	Vegetais	Na[Bφ] ₄ /PVA	87-430 mg N-NH ₄ ⁺ /L	70	36
Potássio	Vegetais	Na[Bφ] ₄ /PVA	78-390 mg/L	70	36
Potássio	Águas	Na[Bφ] ₄ /pH 9	2,0-20 mg/L	60	25
Prometazina	Prod. Farm.	Azul de Bromofenol	25-197 mg/L	32	37
Proteínas	Meio de cultivo	Anticorpos	0-1 mg/L	240	38
Proteínas	Fermentação	Anticorpos	1-1000 mg/L	450	39
Pululanase	Meio de Cultivo	Anticorpos	10-1000 U/L	240	40
Sulfato	Plantas	BaCl ₂ /gelatina	0-0,66 mg/L	150	19
Sulfato	Plantas	BaCl ₂ /PVA	5-200 mg/L	120	20
Sulfato	Água	BaCl ₂ /PVA	1-30 mg/L	120	41
Sulfato	Água de chuva	BaCl ₂	0,10-2,0 mg/L	50	41
Sulfato	Água natural	BaCl ₂ etanol/água	2,0-20 mg/L	35	23
Sulfato	Água natural	BaCl ₂ /PVA	10-120 mg/L	40	42
Sulfato	Água Natural	Cloranilato de bário	0-40 mg/L	30	43
Sulfato	Vinhos	BaCl ₂ /etanol	300-1500 mg/L	5	44
Tiamina	Prod. Farm.	Ácido Silicotungstico/PEG	5,0x10 ⁻⁵ -3,0x10 ⁻⁴ mol/L	90	27

2.3-Métodos para determinação de homatropina

Há diversos procedimentos analíticos para determinação de atropina⁴⁵⁻⁶³ e seus derivados^{45-49,59,63} descritos na literatura. Dentre estes, destacam-se a eletroforese capilar⁴⁵⁻⁴⁹, cromatografia líquida de alta eficiência⁵⁰⁻⁵⁵, cromatografia gasosa⁵⁶, potenciometria^{57,58} e espectrofotometria no UV⁵⁹ e visível⁶⁰⁻⁶² após extração do fármaco em solvente orgânico apropriado⁵⁹ ou reação com reagente cromogênico⁶⁰⁻⁶³. Entretanto, poucos são os métodos descritos na literatura para a determinação de metilbrometo de homatropina, a saber: cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC)⁶⁴, cromatografia gás-líquido⁶⁵, espectrofotometria de absorção molecular derivativa⁶⁶, espectrofotometria de absorção molecular na região do ultra-violeta⁶⁷ e visível⁶⁸ empregando algum reagente cromogênico e potenciometria empregando eletrodo íon-seletivo de membrana líquida contendo como material ativo o par-iônico ($[C_{16}H_{21}NO_3 \cdot CH_3]^+ [B\phi_4]^-$) imobilizado em uma membrana de PVC⁶⁹.

A Farmacopéia Americana (USP)⁷⁰ e a A.O.A.C⁷¹ recomendam um método volumétrico utilizando-se solução de nitrato de cério(IV) e amônio como titulante e nitrofenantrolina como indicador. Esse procedimento é extremamente moroso envolvendo diversas etapas, incluindo uma de aquecimento até ebulição da solução amostra-reagentes.

O procedimento da Farmacopéia Brasileira⁷² recomenda um método potenciométrico empregando-se como titulante nitrato de prata 0,1 mol L⁻¹, eletrodo indicador de prata metálica e como referência um eletrodo de prata/cloreto de prata com dupla junção. Nesse método potenciométrico, cada mL da solução do titulante gasta na titulação corresponde a 37,028 mg de metilbrometo de homatropina.

Considerando esses procedimentos analíticos, objetiva-se desenvolver no presente trabalho de dissertação procedimentos analíticos simples, rápidos e eficazes para a determinação de metilbrometo de homatropina em medicamentos empregando-se detecção turbidimétrica e condutométrica.

CAPÍTULO 3- PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes e soluções

Todos os reagentes empregados neste trabalho de dissertação foram de grau analítico e as soluções foram preparadas com água destilada e tratada em um sistema Milli-Q, modelo UV-Plus ultra-baixo teor de composto dissolvidos, Millipore (Redford, MA, USA).

3.1.1 Solução de HCl 0,05 mol L⁻¹

A solução de HCl 0,05 mol L⁻¹ foi preparada pela diluição de 8,5 mL de HCl concentrado (Merck) em água desionizada para 2L, sendo padronizada com solução de hidróxido de sódio 0,05 mol L⁻¹ previamente padronizada.

3.1.2 Solução estoque de metilbrometo de homatropina 500 mg L⁻¹

A solução estoque de metilbrometo de homatropina 500 mg L⁻¹ foi preparada pela dissolução de 0,0215 g de metilbrometo de homatropina (Henrifarma) em balão volumétrico de 25 mL com solução de HCl 0,05 mol L⁻¹.

3.1.3 Solução estoque de ácido silicotúngstico 1,0x10⁻³ mol L⁻¹

A solução de ácido silicotúngstico 1,0x10⁻³ mol L⁻¹ foi preparada pela dissolução de 0,07195 g deste ácido (Sigma, USA) em balão volumétrico de 25 mL com solução de HCl 0,05 mol L⁻¹.

3.1.4 Solução estoque de nitrato de prata 1,0x10⁻³ mol L⁻¹

A solução de AgNO₃ 1,0x10⁻³ mol L⁻¹ (Sigma, USA) foi preparada pela dissolução de 0,0339 g deste reagente em balão volumétrico de 200 mL com água desionizada.

3.1.5. Preparação das amostras

As amostras foram preparadas pela dissolução de 2,0 mL e 2,5 mL de amostras A e B respectivamente em um balão de 10 mL e completado o volume com HCl 0,05 mol L⁻¹ ou água para os sistemas em fluxo empregando respectivamente como reagente o ácido silicotúngstico ou nitrato de prata.

3.2 Instrumentação

3.2.1 Medidas de massa

As medidas de massa foram realizadas utilizando-se balança analítica METTLER, modelo H10 com precisão de $\pm 0,1$ mg.

3.2.2. Medidas de pH

As medidas de pH foram feitas empregando-se pHmetro Orion (USA), modelo EA 940, com precisão de 0,1 mV (0,01 unidade de pH).

3.2.3. Medidas condutométricas

Nas titulações condutimétricas foi utilizado um condutivímetro da Micronal, modelo B-330, uma célula de vidro de 50 mL com camisa para a circulação de água de um banho termostatizado Tecnal (Piracicaba/SP), modelo TE-184 e célula de condutividade Digimed (São Paulo/SP), modelo DMC 010 e constante de célula K igual 1 cm⁻¹.

3.2.4. Espectrofotômetro

Nos sistemas em fluxo desenvolvidos, as medidas de turbidez foram feitas utilizando um espectrofotômetro (Femto, Brasil) modelo 432, equipado com uma cela de fluxo de 1,0 cm de caminho ótico, em 410 nm.

As demais medidas espectrofotométricas foram feitas em um espectrofotômetro com arranjo linear de diodos Hewlett Packard, modelo 8452A, empregando-se uma cubeta de quartzo de 1,00 cm de caminho óptico acoplado a um microcomputador.

3.2.5. Bomba peristáltica

Para propulsão das soluções de reagentes e amostras utilizou-se uma bomba peristáltica de 12 canais (Ismatec, Zurich - Suíça), modelo 7618-50.

3.2.6. Tubos e conexões

Foram empregados tubos e conexões de polietileno com diâmetros internos de 0,8 mm para confecções das bobinas reacionais, alça de amostragem, alça de reagente e percurso analítico. Tubos de propulsão de Tygon[®] de diferentes diâmetros internos foram também empregados.

3.2.7. Injetor comutador

As amostras, soluções padrão e reagentes foram inseridas no sistema de fluxo com o auxílio de um injetor comutador manual construído em acrílico.

3.2.8. Registrador

Para registro dos sinais transientes utilizou-se um registrador x-t, de dois canais Cole Parmer (Niles – IL, USA), modelo 1202.0000.

3.3 Procedimentos Experimentais

3.3.1. Titulação condutométrica

Nas titulações condutométricas volumes variados da solução de amostra (V_o) foram titulados com soluções de cada um dos titulantes (ácido silicotúngstico ou nitrato de prata). Após adição de cada volume do titulante, sob agitação constante de 200 rpm, a condutância era registrada após 1 min. Em todas as determinações a condutância medida (L_m) foi corrigida, levando-se em conta a diluição da solução de amostra. Assim, $L_c = L_m (V_o + V_{ad})/V_o$, onde L_c é a condutância corrigida, V_o é o volume da solução da amostra e V_{ad} é o volume adicionado do titulante (ácido silicotúngstico quando se titulou o cátion do fármaco ou nitrato de prata quando se titulou o ânion brometo do fármaco).

3.3.2. Método comparativo da Farmacopéia Brasileira

Foi utilizado o método da Farmacopéia Brasileira⁷¹ como método comparativo. Foi dissolvida uma massa 0,3000 g da amostra em 10 mL de água e titulada com solução de nitrato de prata $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. O ponto final foi determinado potenciométricamente usando eletrodo indicador de prata e eletrodo de referência prata/cloreto de prata. Cada mL de nitrato de prata $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ equivale a 37,028 mg de $C_{17}H_{24}BrNO_3$.

3.3.3. Análise por injeção em fluxo empregando ácido silicotúngstico como reagente precipitante.

Nos estudos dos parâmetros físicos do sistema FIA foram empregadas soluções de HCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ como solução transportadora, ácido silicotúngstico $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ como reagente e metilbrometo de homatropina $6,75 \times 10^{-5}$; $1,35 \times 10^{-4}$ e $2,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ como solução de referência.

3.3.3.1 Efeito da vazão.

No estudo do efeito da vazão foram utilizadas uma alça de amostra de 250 μL (50 cm) e uma de reagente 125 μL (25 cm). Nesse estudo, fixou-se a vazão do carregador do reagente em 3,9 mL min^{-1} e variou-se a vazão do transportador da amostra em 1,5; 2,0; 3,9 e 4,7 mL min^{-1} . Em seguida, fixou-se a vazão do transportador da amostra em 3,9 mL min^{-1} e variou-se a vazão do carregador do reagente em 1,54; 2,0; 3,9 e 4,7 mL min^{-1} .

3.3.3.2. Efeito dos volumes das alças da amostra e do reagente

Para o estudo do volume da alça da amostra fixou-se a alça do reagente em 125 μL (25 cm) e variou-se o volume da alça da amostra em 50, 125, 250, 375 e 500 μL (10, 25, 50, 75 e 100 cm). Em seguida, fixou-se a alça da amostra em 375 μL (75 cm) e variou-se a alça do reagente em 50, 125, 250, 375 e 500 μL (10, 25, 50, 75 e 100 cm).

3.3.3.3. Efeito do comprimento do reator

Para este estudo variou-se o comprimento do reator em 30, 50, 100, 150 e 200 cm.

3.3.3.4. Efeito da concentração da solução transportadora

No estudo do efeito da concentração da solução de HCl (solução transportadora) sobre o sinal analítico, utilizaram-se as seguintes concentrações: 0,01; 0,05; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,25 e 1,5 mol L^{-1} para concentrações de metilbrometo de homatropina $6,75 \times 10^{-5}$; $1,35 \times 10^{-4}$ e $2,02 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} e ácido silicotúnsrgico 1×10^{-3} mol L^{-1} .

3.3.3.5. Efeito da concentração do reagente

Neste estudo avaliou-se o efeito do ácido silicotúngstico nas concentrações de $2,5 \times 10^{-4}$; $5,0 \times 10^{-4}$; $1,0 \times 10^{-3}$; $2,5 \times 10^{-3}$; $5,0 \times 10^{-3}$ e $8,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ sobre o sinal analítico, utilizando-se metilbrometo de homatropina nas concentrações de $6,75 \times 10^{-5}$; $1,35 \times 10^{-4}$ e $2,02 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e HCl 0,05 mol L⁻¹ como solução transportadora.

3.3.3.6. Diagrama esquemático do sistema de análise por injeção em fluxo empregando ácido silicotúngstico como reagente precipitante.

O diagrama do sistema de injeção em fluxo com zonas coalescentes empregado para a determinação turbidimétrica de metilbrometo de homatropina empregando-se o ácido silicotúngstico como reagente precipitante está apresentado na Figura 3.1. Alíquotas de 375 μL (75 cm) (soluções de referência ou da amostra) e de 125 μL (25 cm) (solução do reagente) foram injetadas simultaneamente na solução transportadora C₁ e C₂ (HCl 0,05 mol L⁻¹) utilizando-se um injetor-comutador manual de acrílico. Soluções de metilbrometo de homatropina de $6,75 \times 10^{-5}$; $1,35 \times 10^{-4}$ e $2,02 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ quando inseridas na solução transportadora C₁ encontram a solução do reagente (ácido silicotúngstico $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹) no ponto de confluência X, formando precipitado no reator helicoidal B (50 cm), monitorado turbidimetricamente em 410nm.

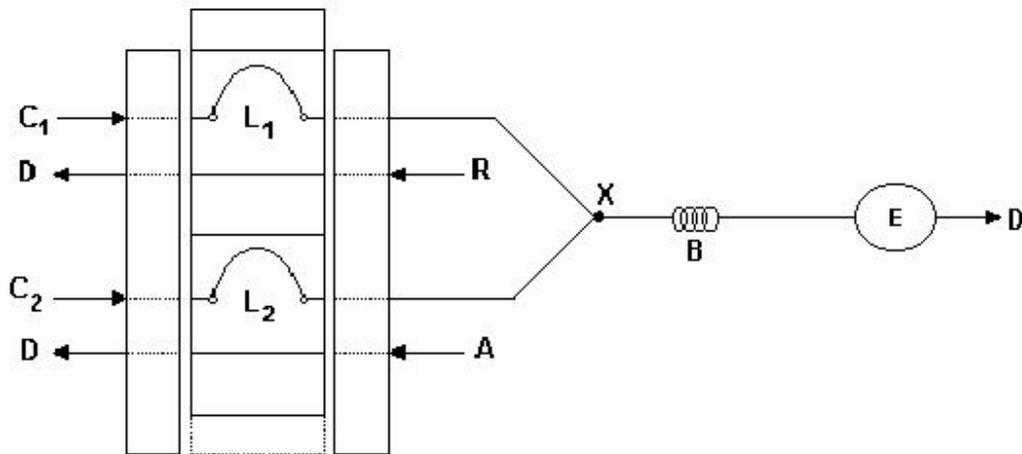


Figura 3.1- Diagrama esquemático do sistema de análises por injeção em fluxos com zonas coalescentes para a determinação turbidimétrica de metilbrometo de homatropina empregando-se o ácido silicotúngstico como reagente precipitante. C_2 = transportador do reagente $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ ($\text{HCl } 0,05 \text{ mol L}^{-1}$); C_1 = transportador da amostra $3,9 \text{ mL min}^{-1}$ ($\text{HCl } 0,05 \text{ mol L}^{-1}$); A = solução da amostra ou solução de referência; R = reagente (ácido silicotúngstico $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$); L_1 = alça do reagente ($125 \mu\text{L}$); L_2 = alça da amostra ($375 \mu\text{L}$); X = ponto de confluência; B = reator helicoidal (50 cm); E = espectrofotômetro ($\lambda = 410 \text{ nm}$) e D = descarte.

3.3.4. Análise por injeção em fluxo empregando nitrato de prata como reagente precipitante.

Os estudos dos parâmetros físicos foram realizados utilizando água desionizada como transportador, nitrato de prata $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ como reagente e metilbrometo de homatropina $1,5 \times 10^{-3}$, $2,0 \times 10^{-3}$ e $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ como solução referência.

3.3.4.1 Efeito da vazão

Para o estudo da vazão foi utilizado alça de amostra de $250 \mu\text{L}$ (50 cm) e reagente $125 \mu\text{L}$ (25 cm), fixou-se a vazão do transportador do reagente em $3,9 \text{ mL min}^{-1}$ e variou-se a vazão do transportador da amostra em 1,5; 2,0; 3,9 e $4,7 \text{ mL min}^{-1}$. Em

seguida fixou-se a vazão do transportador da amostra em $3,9 \text{ mL min}^{-1}$, variando-se a vazão do transportador do reagente em 1,5; 2,0; 3,9 e $4,7 \text{ mL min}^{-1}$.

3.3.4.2. Efeito dos volumes das alças da amostra e do reagente

Para o estudo do volume da alça da amostra fixou-se a alça do reagente em $125 \mu\text{L}$ (25 cm) e variou-se o volume da alça da amostra em 50, 125, 250, 375 e $500 \mu\text{L}$ (10, 25, 50, 75 e 100 cm). Em seguida, fixou-se a alça da amostra em $375 \mu\text{L}$ (75 cm) e variou-se a alça do reagente em 12,5 25, 50, 125, 250, 375 e $500 \mu\text{L}$ (2,5; 5; 10, 25, 50, 75 e 100 cm).

3.3.4.3. Efeito do comprimento do reator

Para este estudo variou-se o comprimento do reator em 30, 50, 100, 150 e 200 cm.

3.3.4.4. Efeito da concentração do reagente

Neste estudo avaliou-se o efeito do nitrato de prata nas concentrações de $8,0 \times 10^{-4}$; $1,0 \times 10^{-3}$; $2,5 \times 10^{-3}$; $5,0 \times 10^{-3}$; $1,0 \times 10^{-2}$; $2,5 \times 10^{-2}$ e $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ sobre o sinal analítico, utilizando-se metilbrometo de homatropina nas concentrações de $1,5 \times 10^{-3}$; $2,0 \times 10^{-3}$ e $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e água desionizada como transportador.

3.3.4.5. Diagrama esquemático do sistema de análise por injeção em fluxo empregando nitrato de prata como reagente precipitante.

O diagrama do sistema de injeção em fluxo com zonas coalescentes empregado para a determinação turbidimétrica de metilbrometo de homatropina empregando-se nitrato de prata como reagente precipitante está apresentado na Figura 3.2. Alíquotas de $375 \mu\text{L}$ (75 cm) (soluções de referência ou da amostra) e de $25 \mu\text{L}$ (5 cm) (solução do reagente) foram injetadas simultaneamente no transportador C_1 e C_2 (H_2O) utilizando-se um injetor-comutador manual de acrílico. Soluções de metilbrometo de

homotropina de $1,5 \times 10^{-3}$, $2,0 \times 10^{-3}$ e $2,5 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ quando inseridas no transportador C₁ encontram a solução do reagente (nitrato de prata $1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹) no ponto de confluência X, formando precipitado no reator helicoidal B (200 cm), monitorado turbidimetricamente em 410nm.

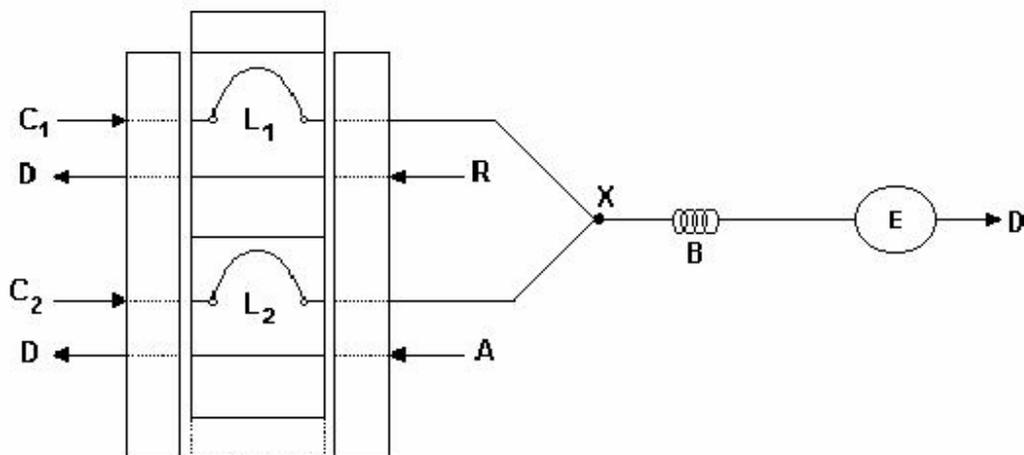


Figura 3.2- Diagrama esquemático do sistema de análises por injeção em fluxos com zonas coalescentes para a determinação turbidimétrica de metilbrometo de homotropina empregando-se o nitrato de prata como reagente de precipitação. C₂= transportador do reagente 2,0 mL min⁻¹; C₁ = transportador da amostra 3,9 mL min⁻¹; A = amostra ou solução de referência; R = reagente (nitrato de prata $1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹); L₁ = alça do reagente (25 μL); L₂ = alça da amostra (375 μL); X = ponto de confluência; B = reator helicoidal (200 cm); E = espectrofotômetro e D = descarte.

CAPÍTULO 4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análise por injeção em fluxo empregando ácido silicotúngstico como reagente precipitante

As características do sistema em fluxo foram inicialmente avaliadas empregando o diagrama de fluxos mostrada na Figura 3.1, um composto colorido (hexacianoferrato de potássio (III) 0,01% m/v) como solução reagente (R) e HCl 0,05 mol L⁻¹ no lugar da solução de amostra (A). Um estudo sistemático foi realizado fixando-se a vazão da solução da amostra em 3,9 mL min⁻¹ e variando-se a vazão da solução reagente no intervalo de 1,5 a 4,7 mL min⁻¹. Em seguida, a vazão da solução reagente foi fixada em 3,9 mL min⁻¹ e a vazão da solução da amostra (HCl 0,05 mol L⁻¹) foi variada no intervalo de 1,5 a 4,7 mL min⁻¹. A Figura 4.1 mostra que a melhor sincronicidade obtida foi para vazão de 3,9 mL min⁻¹ para solução de amostra e 2,0 mL min⁻¹ para solução de reagente.

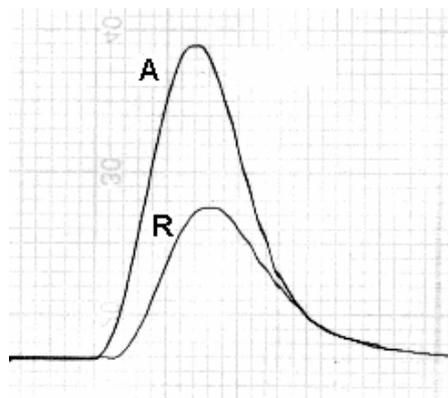


Figura 4.1- Estudo da sincronicidade. A, amostra (HCl 0,05 mol L⁻¹), com vazão de 3,9 mL min⁻¹ e R, solução reagente (hexacianoferrato de potássio (III) 0,01% m/v), com vazão de 2,0 mL min⁻¹. Os outros parâmetros estão descritos na Figura 3.1.

O metilbrometo de homotropina reage com o ácido silicotúngstico, como mostrado na equação 4.1, formando um precipitado (par-iônico) que foi monitorado em 410 nm. Na Figura 4.2 são apresentados os espectros de absorção molecular na região do UV-Vis (200-800 nm) das soluções de HCl 0,05 mol L⁻¹, metilbrometo de homotropina (MBH) 1,35x10⁻⁴ mol L⁻¹ e ácido silicotúngstico (AST) 1,0x10⁻³ mol L⁻¹. Como pode ser observado nesta figura, tanto o analito como o reagente de precipitação

e o HCl não interferiram na medida de absorvância do composto formado $[\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_3\cdot\text{CH}_3]_4[\text{Si}(\text{W}_3\text{O}_{10})_4]_{(s)}$.

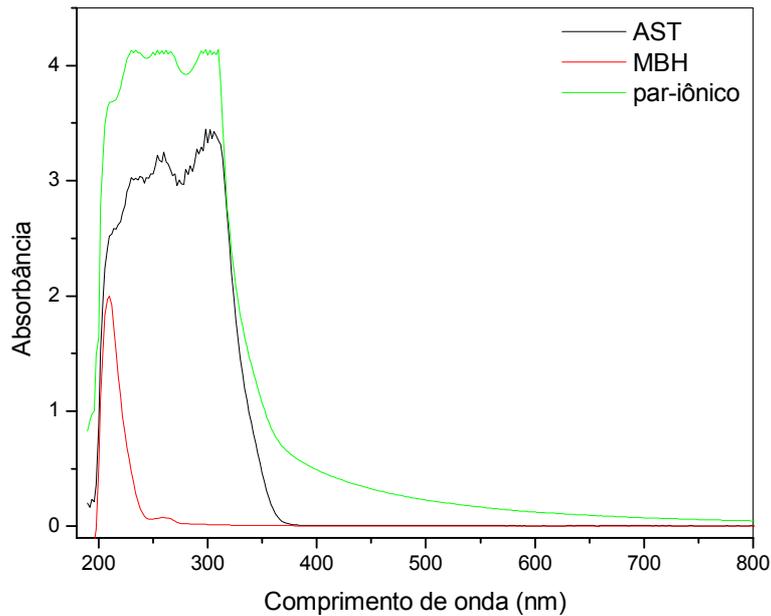
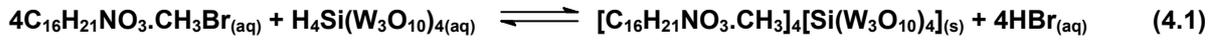


Figura 4.2- Espectros de absorção do MBH (metilbrometo de homatropina) $1,35 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, AST (ácido silicotúngstico) $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ e do par iônico formado $[\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_3\cdot\text{CH}_3]_4[\text{Si}(\text{W}_3\text{O}_{10})_4]_{(s)}$.

4.1.1 Estudo dos parâmetros do sistema em fluxo

Inicialmente, foram estudados os parâmetros químicos do sistema FIA a fim de investigar as condições mais adequadas para a reação entre o ácido silicotúngstico e o metilbrometo de homatropina. Os estudos foram realizados em um sistema FIA com zonas coalescentes e as seguintes configurações: alça de amostragem 250 μL, alça de reagente 125 μL, reator helicoidal de 100 cm, vazão do transportador da amostra e reagente 3,9 mL min⁻¹ e 2,0 mL min⁻¹, respectivamente foram empregadas. Neste estudo foram utilizadas três concentrações de metilbrometo de homatropina, a saber: $6,75 \times 10^{-5}$; $1,35 \times 10^{-4}$ e $2,02 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, e as medidas de absorvância foram feitas

em triplicata. Após o estudo destes parâmetros, os parâmetros físicos do sistema foram estudados com as concentrações de reagente e transportador selecionadas previamente, levando-se em consideração o maior sinal analítico, estabilidade da linha base e frequência de amostragem.

4.1.1.1. Efeito da concentração do transportador (ácido clorídrico)

Estudou-se a influência da concentração de ácido clorídrico nas concentrações de 0,01 a 1,25 mol L⁻¹ sobre o sinal analítico, nas condições experimentais descritas anteriormente. A concentração que proporcionou maior sinal analítico e estabilidade da linha base foi a de 0,05 mol L⁻¹ (Figura 4.3). Como pode ser observado nesta figura, em concentrações menores e maiores que 0,05 mol L⁻¹ desse ácido houve um decréscimo no sinal analítico.

O sinal analítico aumenta inicialmente com o aumento da concentração de ácido clorídrico, provavelmente devido à atração eletrostática entre o brometo (base de Lewis) e o cátion hidrogênio (ácido de Lewis) ou hidroxônio formado na dissociação do HCl, favorecendo assim a reação entre [C₁₆H₂₁NO₃.CH₃]⁺ e o ácido silicotúngstico. Por outro lado, em concentrações maiores que 0,05 mol L⁻¹ de ácido clorídrico o sinal analítico diminui devido provavelmente à diminuição da dissociação do ácido silicotúngstico, diminuindo assim a interação entre o cátion [C₁₆H₂₁NO₃.CH₃]⁺ e ácido silicotúngstico ou os ânions deste ácido: H₃Si(W₃O₁₀)₄⁻, H₂Si(W₃O₁₀)₄²⁻, HSi(W₃O₁₀)₄³⁻ e/ou Si(W₃O₁₀)₄⁴⁻. O conhecimento dos valores de pKa desse ácido seria de extrema importância para a interpretação dos sinais analíticos apresentados na Figura 4.3.

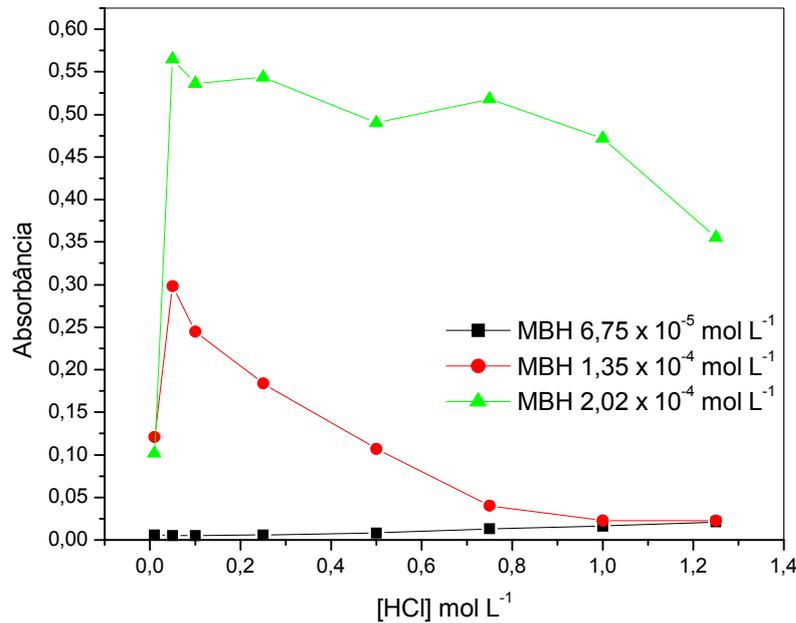


Figura 4.3 – Efeito da concentração da solução transportadora (ácido clorídrico) nas concentrações de 0,01 a 1,25 mol L⁻¹ para três concentrações de metilbrometo de homatropina 6,75 x 10⁻⁵; 1,35 x 10⁻⁴ e 2,02 x 10⁻⁴ mol L⁻¹, concentração do reagente ácido silicotúngstico 2,5 x 10⁻³ mol L⁻¹, alça de amostragem 250 μL, alça de reagente 125 μL, reator helicoidal de 100 cm, vazão do transportador da amostra e reagente 3,9 mL min⁻¹ e 2,0 mL min⁻¹ respectivamente

4.1.1.2. Efeito da concentração do reagente (ácido silicotúngstico)

Estudou-se a influência da concentração do reagente ácido silicotúngstico, nas concentrações de 2,5 x 10⁻⁴ a 8,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ sobre o sinal analítico do sistema FIA (Figura 4.4). Neste estudo foram empregadas soluções de metilbrometo de homatropina (MBH) nas concentrações de 6,75x10⁻⁵, 1,35x10⁻⁴ e 2,02x10⁻⁴ mol L⁻¹ e observou-se a variação e/ou magnitude do sinal analítico (absorbância). O maior sinal analítico em cada concentração de MBH e estabilidades da linha base foram obtidos para a concentração de 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ desse ácido, para concentrações menores e maiores houve queda do sinal analítico observado. Sendo assim, selecionou-se a concentração de 1,0x10⁻³ mol L⁻¹ desse reagente para os estudos adicionais.

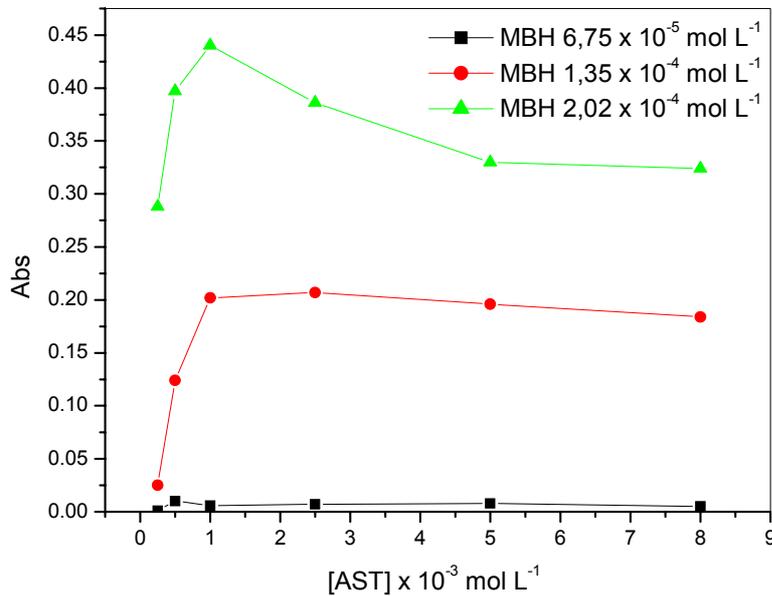


Figura 4.4 - Efeito da concentração da solução reagente nas concentrações de $2,5 \times 10^{-4}$ a $8,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ sobre o sinal analítico para três concentrações de metilbrometo de homatropina $6,75 \times 10^{-5}$; $1,35 \times 10^{-4}$ e $2,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, alça de amostragem $250 \mu\text{L}$, alça de reagente $125 \mu\text{L}$, reator helicoidal de 100 cm , vazão do transportador da amostra e reagente $3,9 \text{ mL min}^{-1}$ e $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ respectivamente

4.1.1.3. Efeito do volume da alça de amostragem

Estudou-se o efeito do volume da alça de amostragem no intervalo de 50 a $750 \mu\text{L}$ para soluções de referência de metilbrometo de homatropina $6,75 \times 10^{-5}$; $1,35 \times 10^{-4}$ e $2,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, concentração de AST $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, vazão do transportador da amostra e reagente $3,9 \text{ mL min}^{-1}$ e $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ respectivamente, concentração de solução transportadora HCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, alça de reagente $125 \mu\text{L}$ e reator 100 cm . Como pode ser observado na Figura 4.5, houve um aumento acentuado da absorvância até um volume de amostra de $500 \mu\text{L}$. No entanto, selecionou-se um volume de $375 \mu\text{L}$ com o objetivo de economizar soluções de referência e/ou de amostra, além de menor tempo de limpeza e maior estabilidade da linha base.

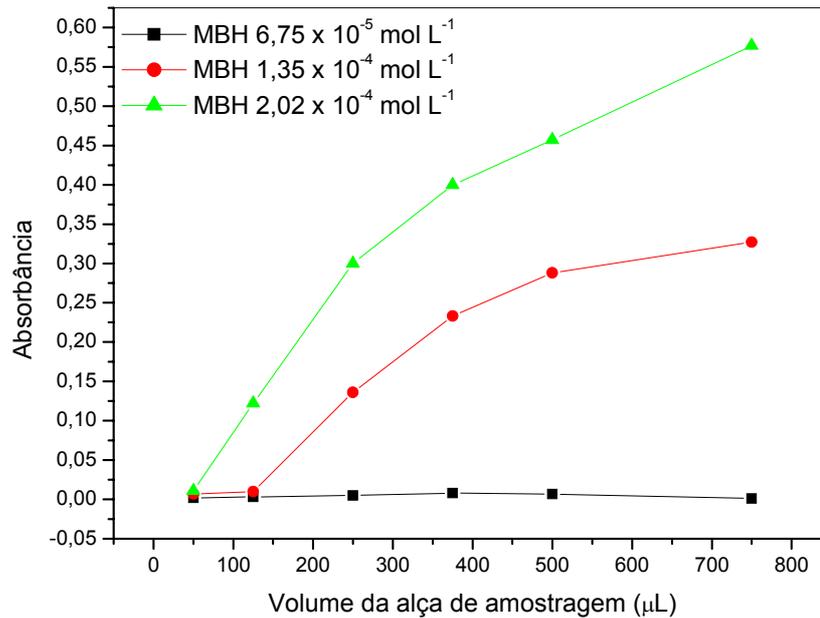


Figura 4.5- Efeito do volume de alça de amostra de 50 a 750 μL sobre o sinal analítico para três concentrações de metilbrometo de homatropina $6,75 \times 10^{-5}$; $1,35 \times 10^{-4}$ e $2,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ com vazão de $3,9 \text{ mL min}^{-1}$, AST $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ com vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$, concentração de solução transportadora HCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, alça de reagente $125 \mu\text{L}$, reator 100 cm .

4.1.1.4. Efeito do volume de alça de reagente

Estudou-se o efeito do volume da alça de reagente no intervalo de 50 a 500 μL para soluções de referência de metilbrometo de homatropina $6,75 \times 10^{-5}$; $1,35 \times 10^{-4}$ e $2,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, vazão do transportador da amostra e reagente $3,9 \text{ mL min}^{-1}$ e $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ respectivamente, concentração de AST $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, concentração de solução transportadora HCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, alça de amostragem $375 \mu\text{L}$ e reator de 100 cm (Figura 4.6). Observou-se um ligeiro aumento do sinal analítico para volumes entre 50 μL e 125 μL , mantendo-se praticamente constante em volumes superiores até 500 μL . Esse comportamento indica que o volume de 125 μL de reagente (AST) é suficiente para que a reação entre o analito e o reagente ocorra em uma extensão que foi suficiente para determinar metilbrometo de homatropina em um intervalo de concentração apreciável com boa precisão e exatidão, além também de proporcionar

economia de reagente e alta frequência de amostragem, como poderá ser verificado em estudos posteriores.

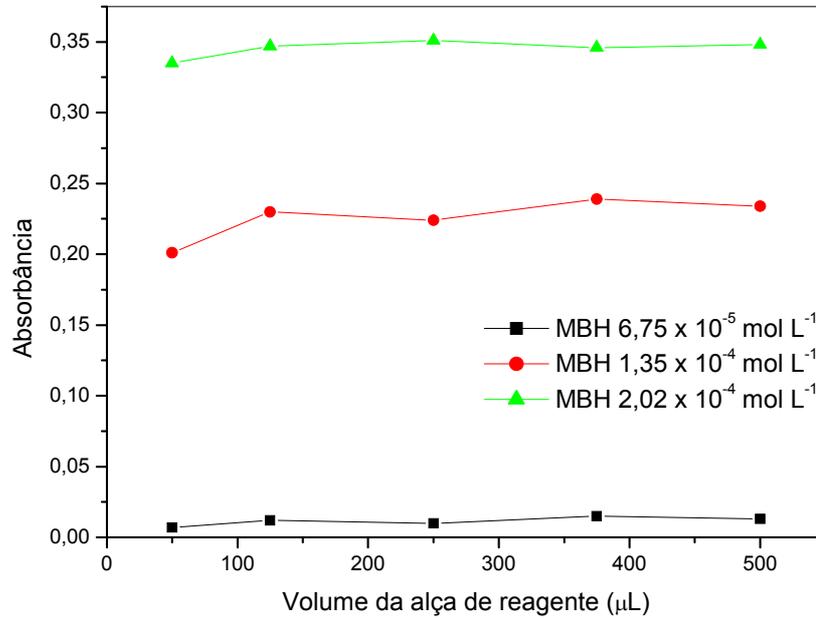


Figura 4.6- Efeito do volume de alça de reagente de 50 a 500 μL sobre o sinal analítico para três concentrações de soluções de referência de metilbrometo de homatropina $6,75 \times 10^{-5}$; $1,35 \times 10^{-4}$ e $2,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ com vazão de $3,9 \text{ mL min}^{-1}$, com vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$, AST $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, concentração de solução transportadora HCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ alça de amostra $375 \mu\text{L}$ e reator 100 cm .

4.1.1.5. Efeito do comprimento do reator

Estudou-se o efeito do comprimento do reator de 30 a 200 cm sobre o sinal analítico para soluções de referência de metilbrometo de homatropina $6,75 \times 10^{-5}$; $1,35 \times 10^{-4}$ e $2,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, concentração de AST $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, concentração de solução transportadora HCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, vazão do transportador da amostra e reagente $3,9 \text{ mL min}^{-1}$ e $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ respectivamente, alça de amostragem de $375 \mu\text{L}$ e alça de reagente $125 \mu\text{L}$ (Figura 4.7). Observou-se que para um comprimento do reator de 50 cm a reação de precipitação do par iônico ($[\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_3 \cdot \text{CH}_3]_4[\text{Si}(\text{W}_3\text{O}_{10})_4]_{(s)}$) proporcionou o maior sinal analítico para cada concentração de MBH estudada, indicando que a reação de formação desse par-iônico é rápida uma vez que o sinal

analítico se manteve praticamente constante até um comprimento de reator de 100 cm, decrescendo ligeiramente para comprimentos de reatores maiores, devido provavelmente à dispersão da zona de amostra. Sendo assim, um comprimento de reator de 50 cm foi escolhido como o mais adequado.

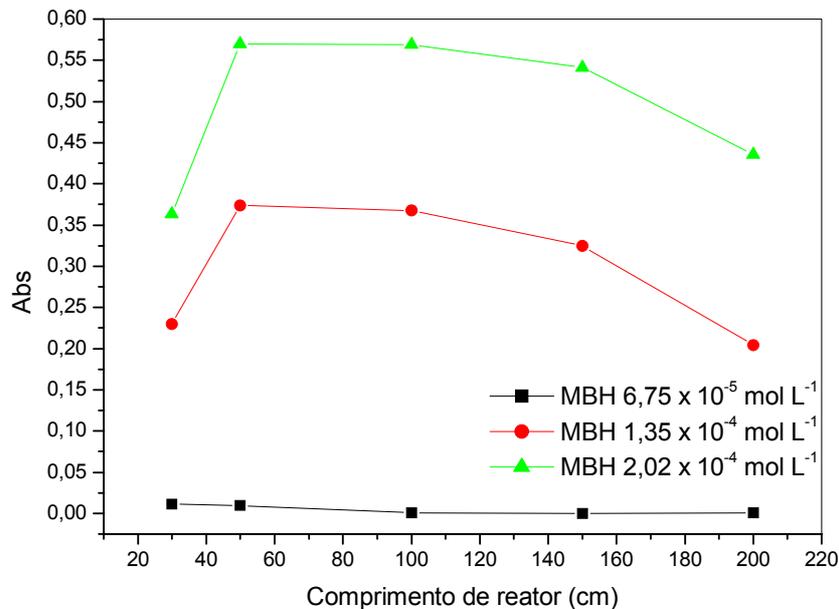


Figura 4.7- Efeito do comprimento do reator de 30 a 200 cm sobre o sinal analítico para concentrações de metilbrometo de homatropina $6,75 \times 10^{-5}$; $1,35 \times 10^{-4}$ e $2,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ com vazão de $3,9 \text{ mL min}^{-1}$, AST $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ com vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$, concentração de solução transportadora HCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, alça de amostra $375 \mu\text{L}$ e alça de reagente $125 \mu\text{L}$.

4.1.1.6. Efeito da vazão da solução da amostra

O efeito da vazão da solução transportadora da amostra (ácido clorídrico $0,05 \text{ mol L}^{-1}$) sobre o sinal analítico foi estudado fixando-se a vazão do transportador do reagente em $3,9 \text{ mL min}^{-1}$ e variando-se a vazão do transportador da amostra de $1,5 \text{ mL min}^{-1}$ a $4,7 \text{ mL min}^{-1}$ para soluções de referência de metilbrometo de homatropina $6,75 \times 10^{-5}$; $1,35 \times 10^{-4}$ e $2,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, concentração de AST $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, concentração de solução transportadora HCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, alça de amostragem de $375 \mu\text{L}$, alça de reagente de $125 \mu\text{L}$ e reator de 50 cm. Como pode ser observado na Figura 4.8, houve um aumento do sinal analítico até a vazão do transportador da amostra de

3,9 mL min⁻¹. Sendo assim, esta vazão foi selecionada pois além de proporcionar maior sensibilidade (inclinação da curva analítica não mostrada aqui) e estabilidade da linha base, apresentou uma freqüência de amostragem elevada.

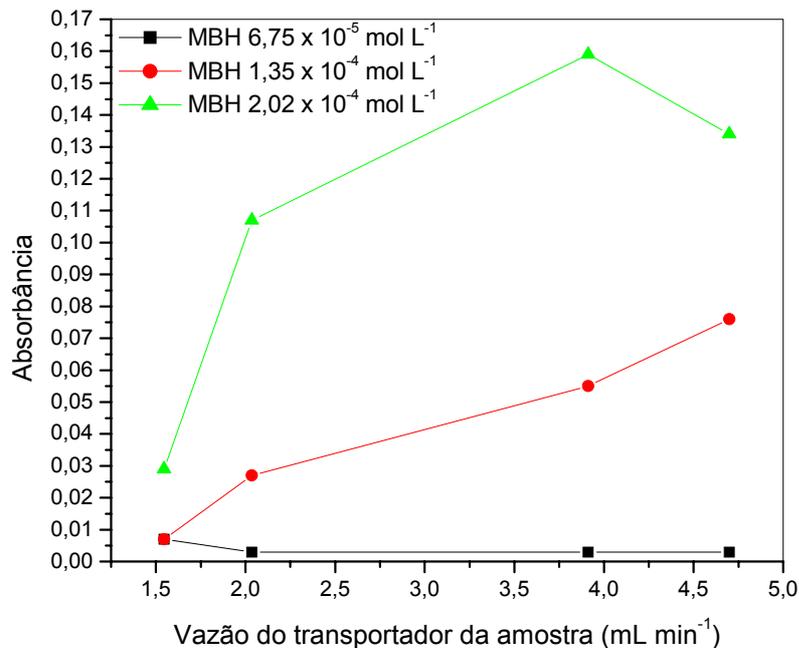


Figura 4.8- Efeito da vazão da solução transportadora da amostra sobre o sinal analítico para concentrações de metilbrometo de homatropina $6,75 \times 10^{-5}$; $1,35 \times 10^{-4}$ e $2,02 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, AST $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, concentração de solução transportadora HCl 0,05 mol L⁻¹, alça de amostra 375 μ L, alça de reagente 125 μ L e comprimento do reator 50 cm

4.1.1.7. Efeito da vazão da solução do reagente

O efeito da vazão da solução transportadora do reagente, ácido clorídrico 0,05 mol L⁻¹, sobre o sinal analítico foi estudado fixando-se a vazão do transportador da amostra em 3,9 mL min⁻¹ e variando-se a vazão do transportador do reagente de 1,5 mL min⁻¹ a 4,7 mL min⁻¹ para soluções de referência de metilbrometo de homatropina $6,75 \times 10^{-5}$; $1,35 \times 10^{-4}$ e $2,02 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, concentração de AST $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, concentração de solução transportadora HCl 0,05 mol L⁻¹, alça de amostragem de 375 μ L, alça de reagente de 125 μ L e reator de 50 cm. A Figura 4.9 mostra que houve um

discreto aumento do sinal analítico quando a vazão do transportador do reagente passou de 1,5 para 2,0 mL min⁻¹, diminuindo ligeiramente em vazões superiores. Assim, uma vazão de 2,0 mL min⁻¹ foi selecionada para estudos posteriores.

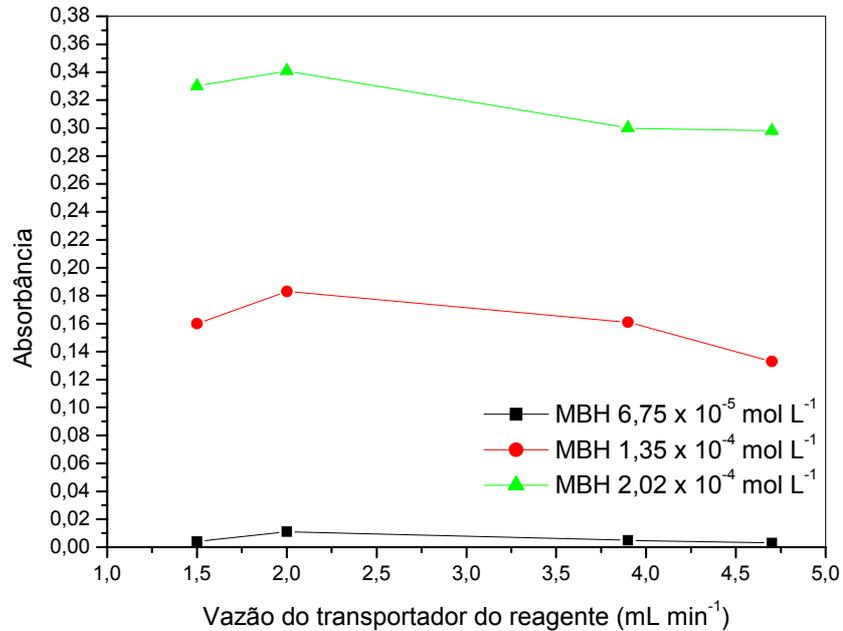


Figura 4.9- Efeito da vazão da solução transportadora do reagente sobre o sinal analítico para três concentrações de soluções de referência, AST $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, concentração de solução transportadora HCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, alça de amostra $375 \mu\text{L}$ (75 cm), alça de reagente $125 \mu\text{L}$ (25 cm) e comprimento do reator 50 cm

A Tabela 4.1 apresenta um resumo das condições finais estabelecidas do sistema de análise em fluxo utilizando ácido silicotúngstico como reagente precipitante.

Tabela 4.1 - Resumo das condições finais estabelecidas

Parâmetros	Valor estudado	Valor selecionado
Concentração do transportador/ mol L ⁻¹	0,01 a 1,25	0,05
Concentração de reagente/ mol L ⁻¹	2,5 x 10 ⁻⁴ a 8,0 x 10 ⁻³	1,0 x 10 ⁻³
Volume alça de amostra/ μ L	50 a 500	375
Volume alça de reagente/ μ L	50 a 500	125
Comprimento de reator/cm	30 a 220	50
Vazão do transportador da amostra/mL min ⁻¹	1,5 a 4,7	3,9
Vazão do transportador do reagente/mL min ⁻¹	1,5 a 4,7	2,0

4.1.1.8. Efeito de surfactantes

Estudou-se o efeito dos surfactantes, polietilenoglicol (PEG), etilenoglicol (EG) e agar-agar nas concentrações de 0,01; 0,025; 0,05 e 0,075% (m/v) como protetores coloidais sobre o sinal analítico. O emprego desses protetores coloidais levou a um decréscimo de 30-50 % do sinal analítico. Como no sistema em fluxo estudado não houve problemas de entupimento de canais e da célula em fluxo, bem como problemas de controle das partículas em suspensão (precipitados monitorados), optou-se em trabalhar apenas com o transportador sem a presença dos mesmos.

4.1.2. Estudo da repetibilidade

A repetibilidade do sistema proposto foi avaliada utilizando-se soluções de referência de metilbrometo de homatropina com concentrações iguais a $1,08 \times 10^{-4}$ e $1,62 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. O desvio padrão relativo (RSD) foi menor que 1,5 % ($n= 10$).

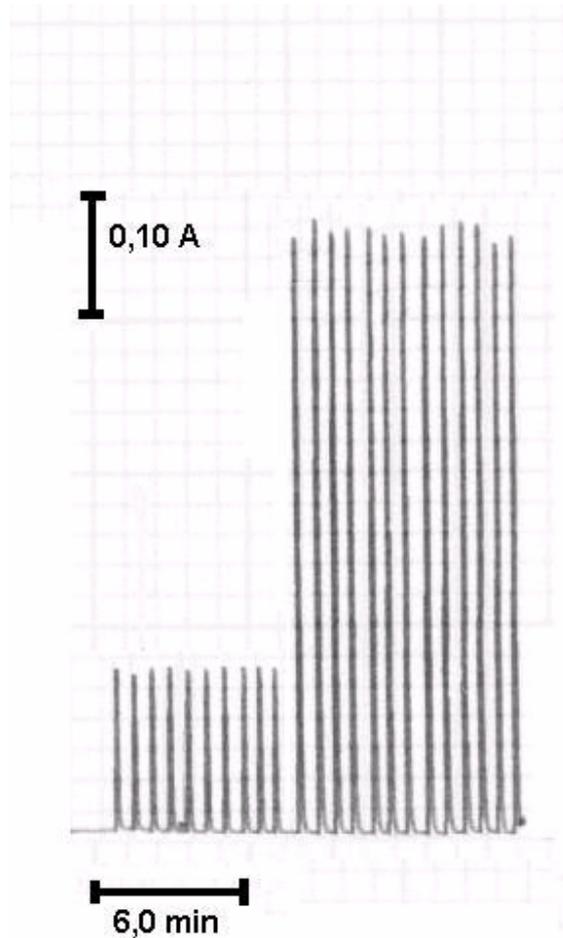


Figura 4.10- Estudo da repetibilidade do sistema em fluxo para soluções de metilbrometo de homatropina de $1,08 \times 10^{-4}$ e $1,62 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

4.1.3. Frequência de amostragem

Para o sistema estudado a frequência analítica, número de determinações por unidade de tempo, foi de 70 h^{-1} .

4.1.4. Estudo do efeito de possíveis interferentes e teste de adição e recuperação

O estudo de possíveis interferentes na determinação de metilbrometo de homatropina em formulações farmacêuticas foi avaliado para excipientes presentes em amostras comerciais. Neste estudo, foram utilizadas soluções de referência de metilbrometo de homatropina $9,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ com cada um dos possíveis interferentes (metilparabeno e propilparabeno) em concentrações de $9,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $9,2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Nenhuma das substâncias investigadas causou qualquer interferência na determinação do metilbrometo de homatropina.

Nos testes de adição e recuperação do analito, três concentrações diferentes de metilbrometo de homatropina 34,1 41,7 e 49,2 mg L^{-1} , foram adicionadas a duas amostras de formulações farmacêuticas e os resultados comparados com aqueles obtidos com as soluções de amostras. Esses resultados estão apresentados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 - Estudo de adição e recuperação de metilbrometo de homatropina em formulações farmacêuticas

Amostra	Metilbrometo de homatropina (mg L^{-1})		Recuperação (%)
	adicionado	encontrado	
A	34,1	34,8±0,9	102
	41,7	41,7±0,8	100
	49,2	50,2±0,6	102
B	34,1	35,2±0,8	103
	41,7	40,9±0,7	98,1
	49,3	47,3±0,9	96,0

Como pode ser observado nessa tabela, a recuperação do analito nas duas amostras variou de 96,0 a 103 %, indicando assim ausência de interferência das substâncias excipientes na determinação de metilbrometo de homatropina.

4.1.5. Aplicação analítica

Os sinais transientes obtidos em triplicata para soluções de referência de metilbrometo de homatropina $8,1 \times 10^{-5}$; $1,2 \times 10^{-4}$; $1,3 \times 10^{-4}$; $1,6 \times 10^{-4}$, $1,9 \times 10^{-4}$ e $2,2 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e soluções de amostras A e B são apresentados na Figura 4.11. Neste estudo, foram injetados em triplicata volumes de soluções de referência de metilbrometo de homatropina naquele intervalo de concentrações, para concentração do reagente ácido silicotungstico $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, alça de amostragem de 375 μ L (75 cm) com vazão do transportador da amostra de 3,9 mL min⁻¹, alça do reagente de 125 μ L (25 cm) com vazão do transportador do reagente em 2,0 mL min⁻¹ e reator de 50 cm.

A curva analítica obtida foi linear no intervalo de concentrações de metilbrometo de homatropina de $8,1 \times 10^{-5}$ a $2,2 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ (Figura 4.12). As condições experimentais são as mesmas apresentadas na legenda da Figura 3.1, a equação obtida foi $A = -0,17616 + 0,00662 [\text{MBH}]$, $r = 0,996$, onde A é a absorbância e [MBH] e a concentração molar de metilbrometo de homatropina. O limite de detecção (três vezes o desvio padrão do branco/inclinação da curva analítica) foi de $5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹.

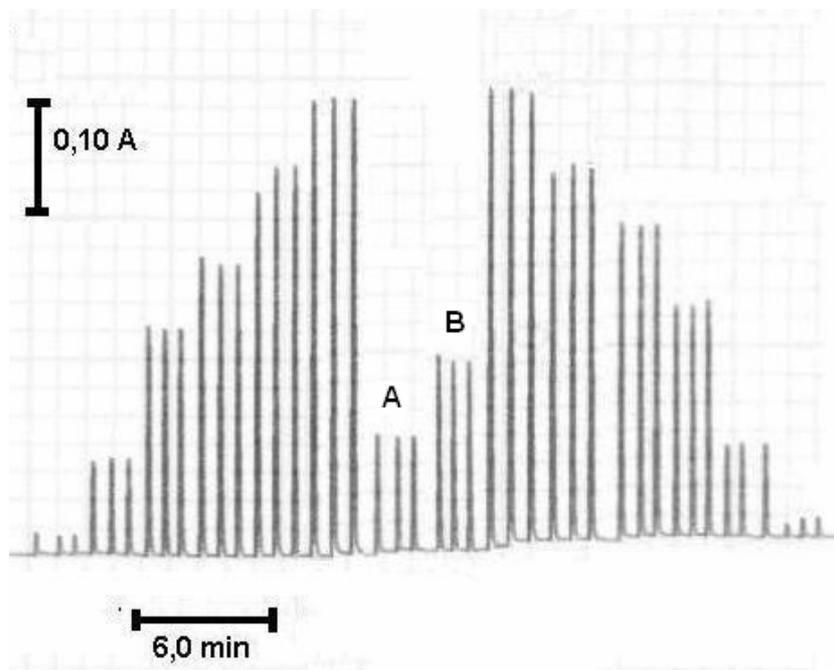


Figura 4.11- Sinais transientes obtidos em triplicata para soluções de referência de metilbrometo de homatropina, $8,1 \times 10^{-5}$; $1,2 \times 10^{-4}$; $1,3 \times 10^{-4}$; $1,6 \times 10^{-4}$, $1,9 \times 10^{-4}$ e $2,2 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e amostras A e B.

O método proposto foi aplicado na determinação de metilbrometo de homatropina em formulações farmacêuticas. Os resultados foram comparados com aqueles obtidos empregando o método proposto pela Farmacopéia Brasileira⁷². e/ou rotulado. A Tabela 4.3 apresenta os resultados obtidos empregando-se o método proposto e o da Farmacopéia Brasileira, bem como aqueles rotulados. Aplicando-se o teste *t* pareado ao conjunto de resultados, não foi observado diferença estatística entre os mesmos a um nível de confiança de 95%, estando os erros relativos em um intervalo aceitável.

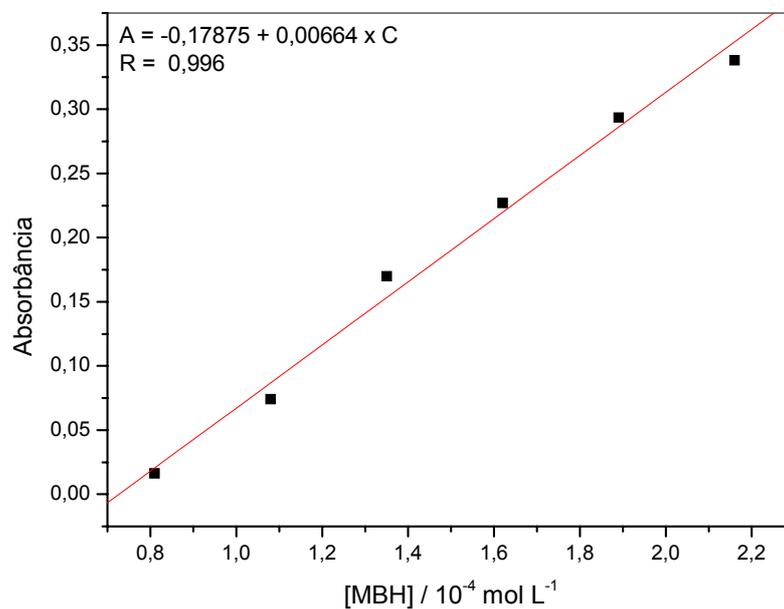


Figura 4.12- Curva analítica obtida no intervalo de concentração de metilbrometo de homatropina de $8,1 \times 10^{-5}$ a $2,2 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹.

Tabela 4.3 - Determinação de metilbrometo de homatropina em formulações farmacêuticas pelo método turbidimétrico e o método comparativo.

Amostra	Metilbrometo de Homatropina (g/L)			Erro relativo (%)	
	Rotulado	Comparativo ⁷²	Turbidimétrico	E ₁	E ₂
A	2,00	1,98±0,01	2,02±0,01	1,0	2,0
B	2,00	2,01±0,02	2,04±0,02	2,0	1,5

n = 3

E₁ = erro relativo entre o método turbidimétrico e o valor rotulado;

E₂ = erro relativo aos métodos turbidimétrico e comparativo.

4.2. Análise por injeção em fluxo empregando nitrato de prata como reagente precipitante

O metilbrometo de homatropina reage com nitrato de prata, como mostrado na Eq. 4.2, formando $\text{AgBr}_{(s)}$ que foi monitorado em 410 nm. A Figura 4.13 apresenta os espectros de absorção na região do ultravioleta e visível para soluções de nitrato de prata $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_3 \cdot \text{CH}_3\text{Br}_{(aq)}$ $1,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e brometo de prata. Como pode ser observado na Figura 4.13, neste comprimento de onda o metilbrometo de homatropina e o nitrato de prata não interferem na medida do composto de baixa solubilidade formado ($\text{AgBr}_{(s)}$).

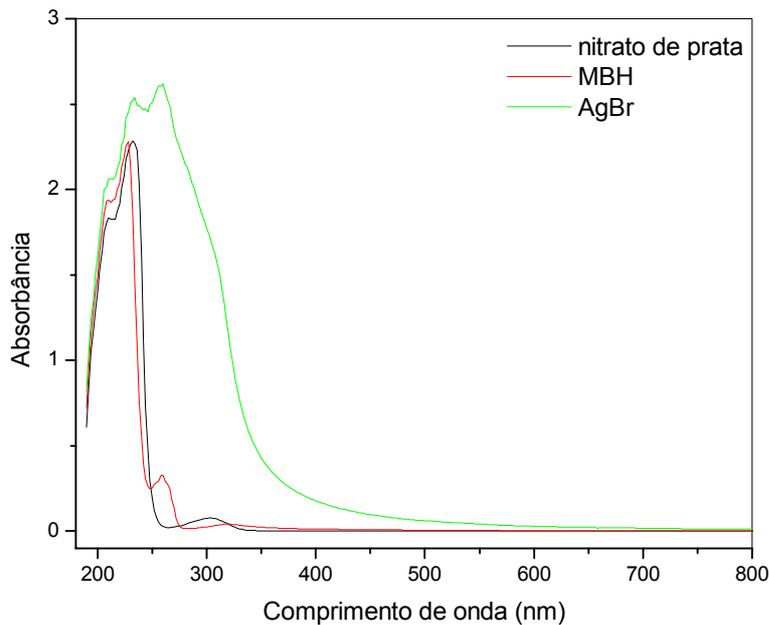


Figura 4.13- Espectros de absorção do MBH (metilbrometo de homatropina) $1,7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, nitrato de prata $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e do brometo de prata $\text{AgBr}_{(s)}$

4.2.1. Estudo dos parâmetros do sistema em fluxo

Inicialmente, foram estudados os parâmetros químicos do sistema FIA a fim de investigar as condições mais adequadas para a reação entre o metilbrometo de homatropina e o nitrato de prata. Os estudos foram realizados em um sistema FIA com zonas coalescentes e as seguintes configurações: alça de amostragem 250 μL , alça de reagente 125 μL , reator helicoidal de 50 cm, vazão do transportador da amostra e reagente 3,9 mL min^{-1} e 2,0 mL min^{-1} respectivamente foram empregadas. Neste estudo foram utilizadas três concentrações de metilbrometo de homatropina, a saber: $1,5 \times 10^{-3}$; $2,0 \times 10^{-3}$ e $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, e as medidas foram feitas em triplicata. Após esse estudo, os parâmetros físicos foram estudados com concentração de reagente selecionado analisando-se o melhor sinal analítico obtido em cada investigação e também a estabilidade da linha base. Em todos os estudos foi utilizada água deionizada como transportador.

4.2.1.1. Efeito da concentração do reagente (nitrato de prata)

Estudou-se a influência da concentração do reagente nitrato de prata no intervalo de concentrações de $2,5 \times 10^{-3}$ a $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ sobre o sinal analítico. As melhores sensibilidades e estabilidades da linha base foram obtidas para a concentração de $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. Como pode ser observado na Figura 4.14 para concentrações de nitrato de prata maiores que $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ houve queda do sinal analítico e para concentração de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi observado um aumento considerável da absorbância, porém, não se obteve estabilidade da linha base. Portanto, optou-se por trabalhar com concentração de $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de AgNO_3 .

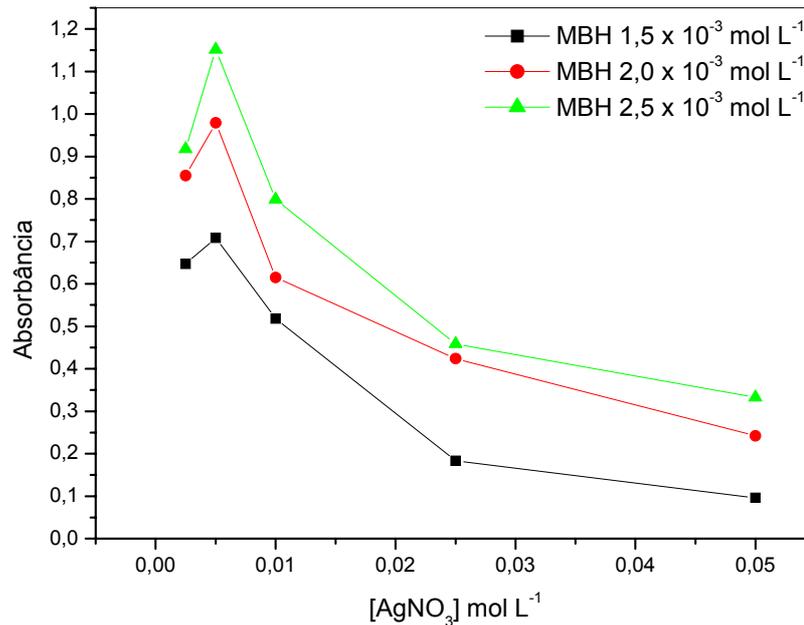


Figura 4.14- Efeito da concentração da solução reagente (AgNO_3) nas concentrações de $2,5 \times 10^{-3}$ a $5,0 \times 10^{-2}$ mols L^{-1} sobre o sinal analítico para três concentrações de soluções de referência e parâmetros citados anteriormente.

4.2.1.2. Efeito do volume de alça de amostragem

Estudou-se o efeito do volume da alça de amostragem no intervalo de 50 a 500 μL para soluções de referência de metilbrometo de homatropina $1,5 \times 10^{-3}$; $2,0 \times 10^{-3}$ e $2,5 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} , concentração de AgNO_3 $1,0 \times 10^{-2}$ mol L^{-1} , vazão do transportador da amostra e reagente $3,9 \text{ mL min}^{-1}$ e $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ respectivamente, alça de reagente 125 μL e reator 50 cm. Observou-se um aumento de absorbância quando o volume da alça de amostra aumentou de 50 μL a 250 μL (Figura 4.15), permanecendo o sinal analítico constante para volumes de amostra superiores (entre 250 a 500 μL). Contudo, os melhores resultados em termos de sensibilidade e estabilidade da linha base foram observados com a alça de 375 μL , sendo essa assim selecionada.

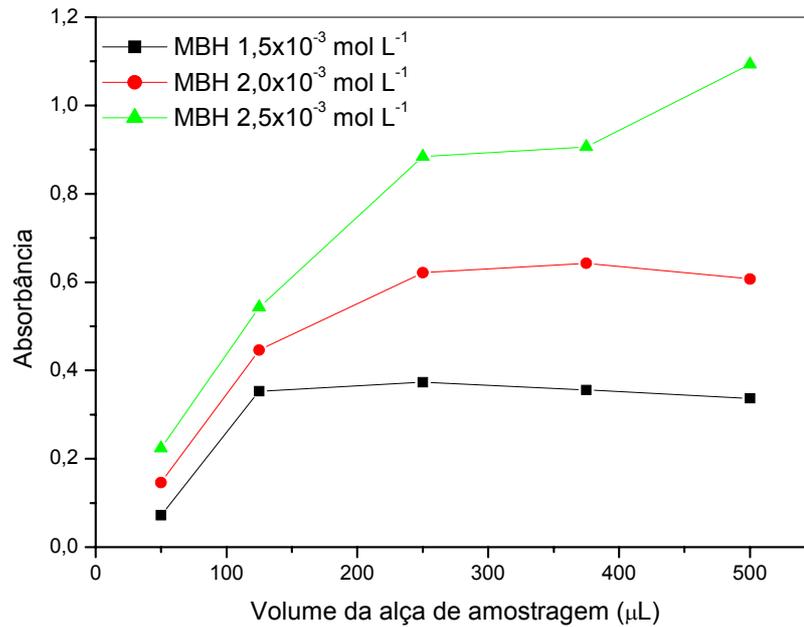


Figura 4.15- Efeito do volume de alça de amostra de 50 a 500 μL sobre o sinal analítico para três concentrações de soluções de referência, com vazão de $3,9 \text{ mL min}^{-1}$, AgNO_3 $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, alça de reagente $125 \mu\text{L}$ e reator 50 cm .

4.2.1.3. Efeito do volume de alça de reagente

Estudou-se o efeito do volume da alça de reagente no intervalo de $12,5$ a $500 \mu\text{L}$ para soluções de referência de metilbrometo de homatropina $1,5 \times 10^{-3}$; $2,0 \times 10^{-3}$ e $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, concentração de AgNO_3 $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, vazão do transportador da amostra e reagente de $3,9 \text{ mL min}^{-1}$ e $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ respectivamente, alça de amostragem de $375 \mu\text{L}$ e reator de 50 cm . Observou-se um maior sinal analítico quando empregou-se uma alça de reagente de $25 \mu\text{L}$, para volumes maiores houve um decréscimo do sinal e estes não apresentaram muita variação. Este comportamento indica que o volume de $25 \mu\text{L}$ de reagente é o suficiente para que a reação ocorra, por esse motivo este foi escolhido, além disso, isso favorece também economia de reagente.

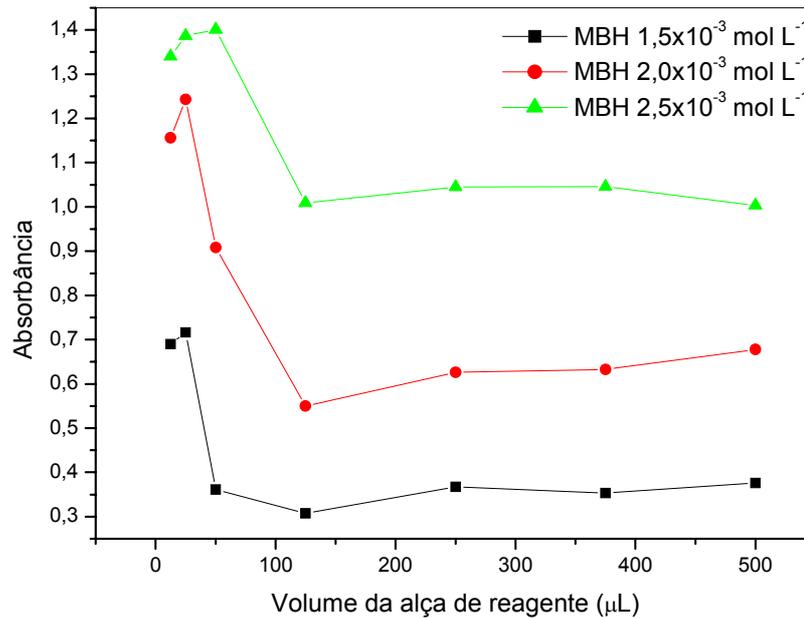


Figura 4.16- Efeito do volume de alça de reagente de 12,5 a 500 μL sobre o sinal analítico para três concentrações de soluções de referência, com vazão de $3,9 \text{ mL min}^{-1}$, AgNO_3 $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, alça de amostra $375 \mu\text{L}$ e reator 50 cm .

4.2.1.4. Efeito do comprimento do reator

Estudou-se o efeito do comprimento do reator de 30 a 220 cm sobre o sinal analítico para soluções de referência de metilbrometo de homatropina $1,5 \times 10^{-3}$; $2,0 \times 10^{-3}$ e $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, concentração de AgNO_3 $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, vazão do transportador da amostra e reagente de $3,9 \text{ mL min}^{-1}$ e $2,0 \text{ mL min}^{-1}$, respectivamente, alça de amostragem $375 \mu\text{L}$ e alça de reagente $25 \mu\text{L}$. Observou-se (Figura 4.17) um aumento do sinal analítico até um comprimento de reator de 200 cm, decrescendo em reatores de comprimento menores devido provavelmente a dispersão da zona de amostra. Assim, o reator de 200 cm foi selecionado e empregado nos estudos posteriores.

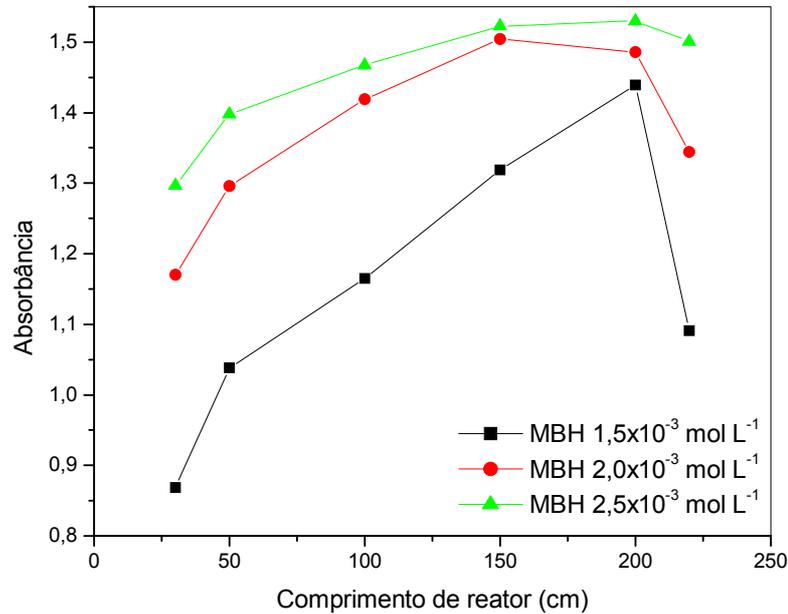


Figura 4.17- Efeito do comprimento do reator de 30 a 220 cm sobre o sinal analítico para três concentrações de soluções de referência, AgNO_3 $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, alça de amostra $375 \mu\text{L}$ (75 cm) e alça de reagente $25 \mu\text{L}$ (5 cm).

4.2.1.5. Efeito da vazão da solução da amostra

O efeito da vazão do transportador da amostra sobre o sinal analítico foi estudado fixando-se a vazão do transportador do reagente em $3,9 \text{ mL min}^{-1}$ e variando-se a vazão do transportador da amostra de $1,5 \text{ mL min}^{-1}$ a $4,7 \text{ mL min}^{-1}$ para soluções de referência de metilbrometo de homatropina $1,5 \times 10^{-3}$; $2,0 \times 10^{-3}$ e $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, concentração de AgNO_3 $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, alça de amostragem de $375 \mu\text{L}$, alça de reagente de $25 \mu\text{L}$ e reator de 200 cm. Foi observado um aumento do sinal analítico ao aumentar a vazão da solução de amostra de $1,5$ a $4,7 \text{ mL min}^{-1}$ (Figura 4.18). No entanto, optou-se por trabalhar com a vazão de $3,9 \text{ mL min}^{-1}$ devido à estabilidade da linha base.

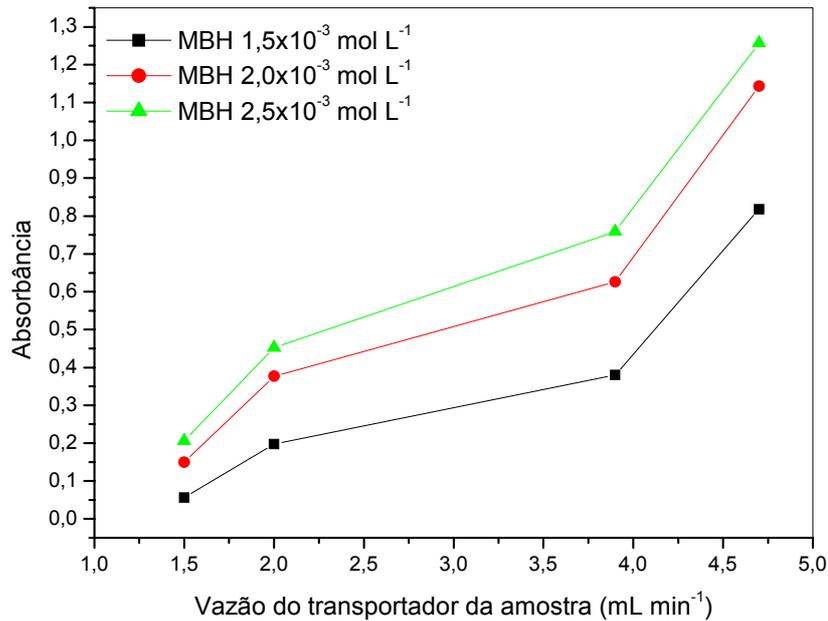


Figura 4.18. Efeito da vazão do transportador da amostra sobre o sinal analítico para três concentrações de soluções de referência, AgNO_3 $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, alça de amostra de $375 \mu\text{L}$, alça de reagente de $25 \mu\text{L}$ e comprimento do reator de 200 cm

4.2.1.6. Efeito da vazão da solução do reagente

O efeito da vazão do transportador do reagente sobre o sinal analítico foi estudado fixando-se a vazão do transportador da amostra em $3,9 \text{ mL min}^{-1}$ e variando-se a vazão do transportador do reagente de $1,5 \text{ mL min}^{-1}$ a $4,7 \text{ mL min}^{-1}$ para soluções de referência de metilbrometo de homatropina $1,5 \times 10^{-3}$; $2,0 \times 10^{-3}$ e $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, concentração de AgNO_3 de $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, alça de amostragem de $375 \mu\text{L}$, alça de reagente de $25 \mu\text{L}$ e reator de 200 cm . A absorbância diminui ao aumentar a vazão da solução de reagente de $1,5$ a $4,7 \text{ mL min}^{-1}$ (Figura 4.19). O melhor compromisso entre frequência de amostragem, sensibilidade do procedimento em fluxo e estabilidade da linha base foram obtidos em vazão da solução de reagente de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$, sendo então selecionada.

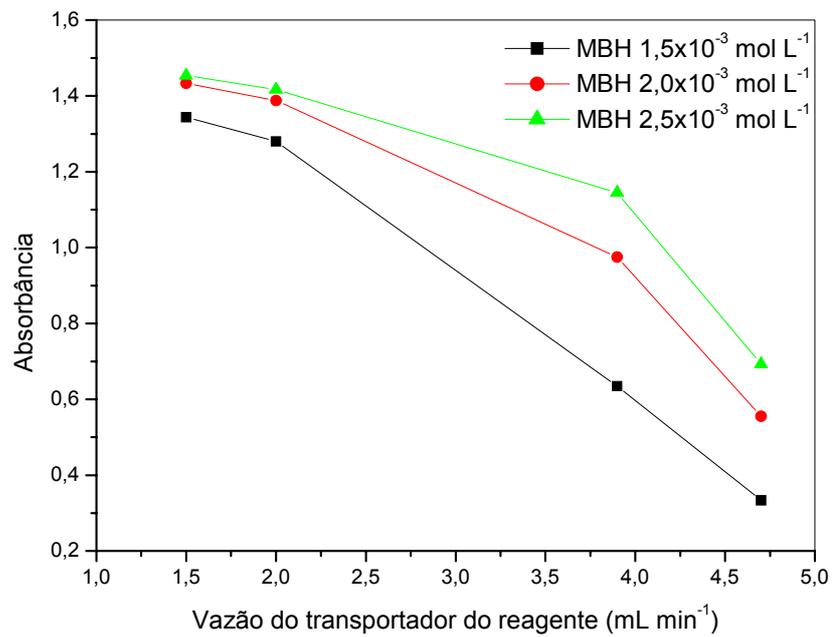


Figura 4.19- Efeito da vazão da solução do reagente sobre o sinal analítico para três concentrações de soluções de referência, AgNO_3 $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, alça de amostra de $375 \mu\text{L}$, alça de reagente de $25 \mu\text{L}$ e comprimento do reator de 200 cm

A Tabela 4.4 apresenta um resumo das condições finais estabelecidas do sistema de análise em fluxo utilizando nitrato de prata como reagente precipitante.

Tabela 4.4 - Resumo das condições finais estabelecidas.

Parâmetros	Valor estudado	Valor selecionado
Concentração de reagente/ mol L ⁻¹	2,5 x 10 ⁻³ a 5,0 x 10 ⁻²	1,0 x 10 ⁻²
Volume alça de amostra/μL	50 a 500	375
Volume alça de reagente/μL	12,5 a 500	25
Comprimento de reator/cm	30 a 220	200
Vazão do transportador da amostra/mL min ⁻¹	1,5 a 4,7	3,9
Vazão do transportador do reagente/mL min ⁻¹	1,5 a 4,7	2,0

4.2.1.7. Efeito de surfactantes

Estudou-se o efeito dos surfactantes, polietilenoglicol (PEG), etilenoglicol (EG) e agar-agar nas concentrações de 0,01; 0,025; 0,05 e 0,075% (m/v) como protetores coloidais sobre o sinal analítico. O emprego desses protetores coloidais levou a um decréscimo de 30-50 % do sinal analítico. Como nos sistemas em fluxo estudados não houve problemas de entupimento de canais e da célula em fluxo, bem como problemas de controle das partículas em suspensão (precipitados monitorados), optou-se em trabalhar apenas com o transportador sem a presença dos mesmos.

4.2.2. Estudo da repetibilidade

A repetibilidade do sistema proposto foi avaliada utilizando-se soluções de referência de metilbrometo de homatropina com concentrações iguais a 1,2 x 10⁻³ e 1,5 x 10⁻³ mol L⁻¹. Os desvios padrões obtidos foram menores que 2,0 % (n=9). A Figura 4.20 apresenta os sinais transientes obtidos neste estudo.

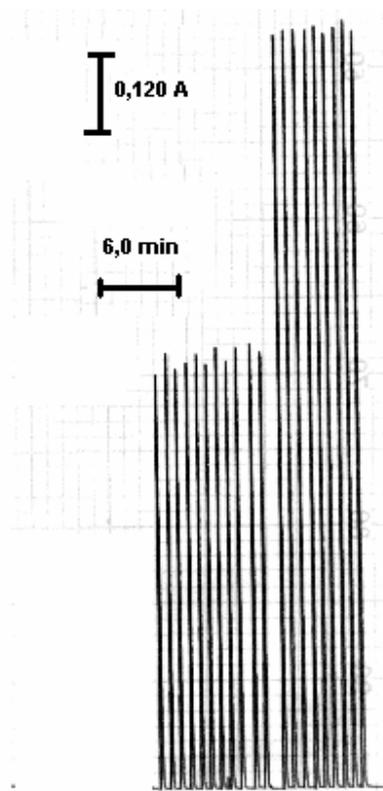


Figura 4.20- Estudo da repetibilidade do sistema em fluxo para soluções de metilbrometo de homatropina de $1,2 \times 10^{-3}$ e $1,5 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹

4.2.3. Frequência de amostragem

A frequência de amostragem é definida como o número de determinações do analito por hora. Para o sistema estudado, a frequência de amostragem foi de 75 h^{-1} , indicando que o sistema pode ser aplicado em laboratórios de controle de qualidade com alta velocidade analítica.

4.2.4. Estudo do efeito de possíveis interferentes e teste de adição e recuperação

O estudo de possíveis interferentes na determinação de metilbrometo de homatropina em formulações farmacêuticas foi avaliado para excipientes presentes em amostras comerciais. Neste estudo, foram utilizadas soluções de referência de metilbrometo de homatropina de $8,34 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ com cada um dos possíveis

interferentes (metilparabeno e propilparabeno) em concentrações de $8,34 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e $8,34 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Nenhuma das substâncias investigadas causou qualquer interferência na determinação do metilbrometo de homatropina.

Nos testes de adição e recuperação do analito, três concentrações diferentes de metilbrometo de homatropina 309,0; 338,0; 367,0 mg L^{-1} , foram adicionadas a três amostras de formulações farmacêuticas e os resultados comparados com aqueles obtidos com as amostras não adicionadas do padrão. Os resultados estão apresentados na Tabela 4.5.

Tabela 4.5 - Estudo de adição e recuperação de metilbrometo de homatropina em formulações farmacêuticas

Amostra	Metilbrometo de homatropina (mg L^{-1})		Recuperação (%)
	adicionado	encontrado	
A	309,0	$321,4 \pm 0,9$	104
	338,0	$331,2 \pm 0,8$	97,9
	367,0	$348,6 \pm 0,6$	94,9
B	309,0	$318,3 \pm 0,8$	103
	338,0	$327,9 \pm 0,7$	97,0
	367,0	$352,3 \pm 0,9$	95,9

4.2.5. Aplicação analítica

Os sinais transientes obtidos em triplicata para soluções de referência de metilbrometo de homatropina $8,0 \times 10^{-4}$; $1,0 \times 10^{-3}$; $1,2 \times 10^{-3}$; $1,5 \times 10^{-3}$ e $1,7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e soluções de amostras A e B são apresentados na Figura 4.21. Neste estudo, foram injetados em triplicata volumes de soluções de referência de metilbrometo de homatropina naquele intervalo de concentrações, para concentração do reagente nitrato de prata $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, alça de amostragem de 375 μL (75 cm) com vazão do transportador da amostra de $3,9 \text{ mL min}^{-1}$, alça do reagente de 25 μL (5 cm) com vazão do transportador do reagente em $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ e reator de 200 cm.

A curva analítica obtida foi linear no intervalo de concentrações de metilbrometo de homatropina de $8,0 \times 10^{-4}$ a $1,7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 4.22). As condições experimentais são as mesmas mostradas na legenda da Figura 3.2, a equação obtida foi $A = -0,978 + 1287,4 [\text{MBH}]$, $r = 0,998$, onde A é a absorvância e [MBH] é a

concentração molar de metilbrometo de homatropina. O limite de detecção (três vezes o desvio padrão do branco/inclinação da curva analítica) foi de $9,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

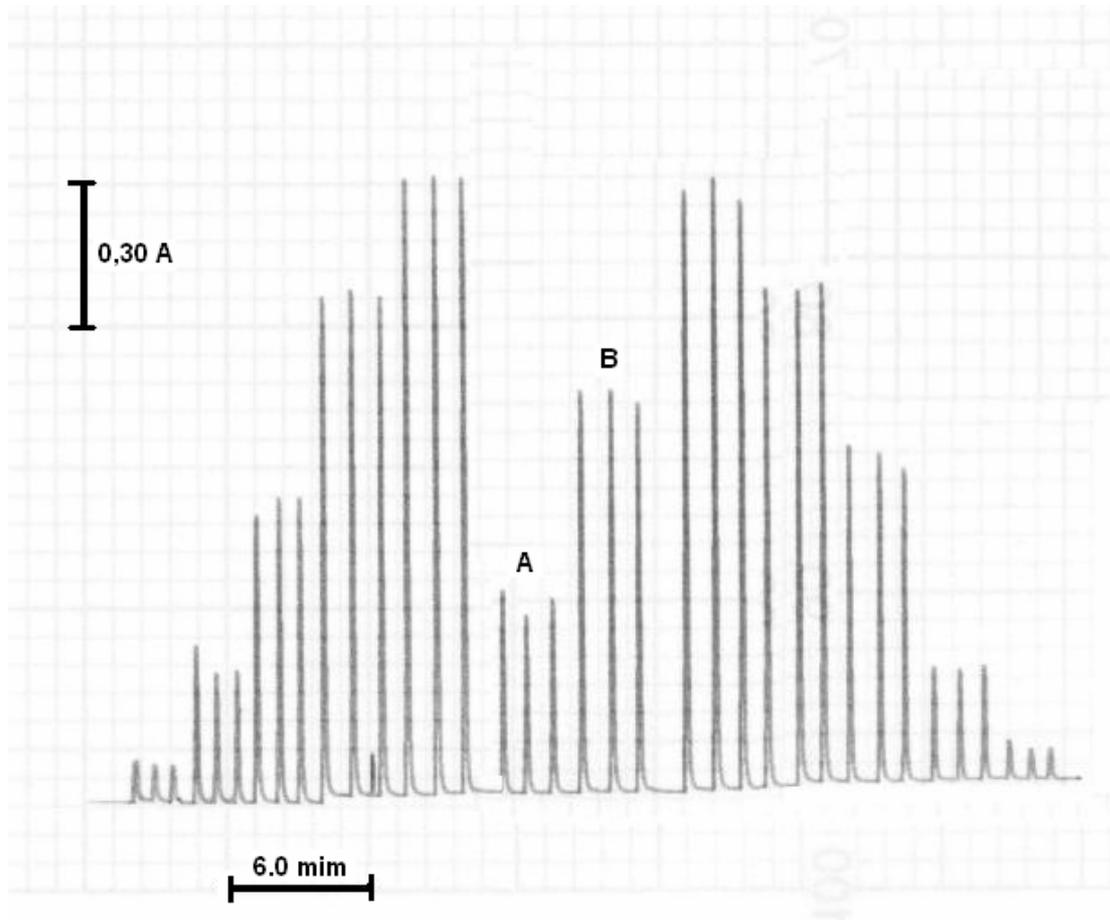


Figura 4.21- Sinais transientes obtidos em triplicata para soluções de referência de metilbrometo de homatropina, $8,0 \times 10^{-4}$; $1,0 \times 10^{-3}$; $1,2 \times 10^{-3}$; $1,5 \times 10^{-3}$ e $1,7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e amostras A e B.

O método proposto foi aplicado na determinação de metilbrometo de homatropina em formulações farmacêuticas. Os resultados foram comparados com aqueles obtidos empregando o método proposto pela Farmacopéia Brasileira⁷² (e/ou rotulado). A Tabela 4.4 apresenta os resultados obtidos empregando-se o método proposto e o da Farmacopéia Brasileira, bem como aqueles (rotulados). Aplicando-se o teste *t* pareado ao conjunto de resultados, não foi observado diferença estatística entre os mesmos a um nível de confiança de 95%, estando os erros relativos em um intervalo aceitável.

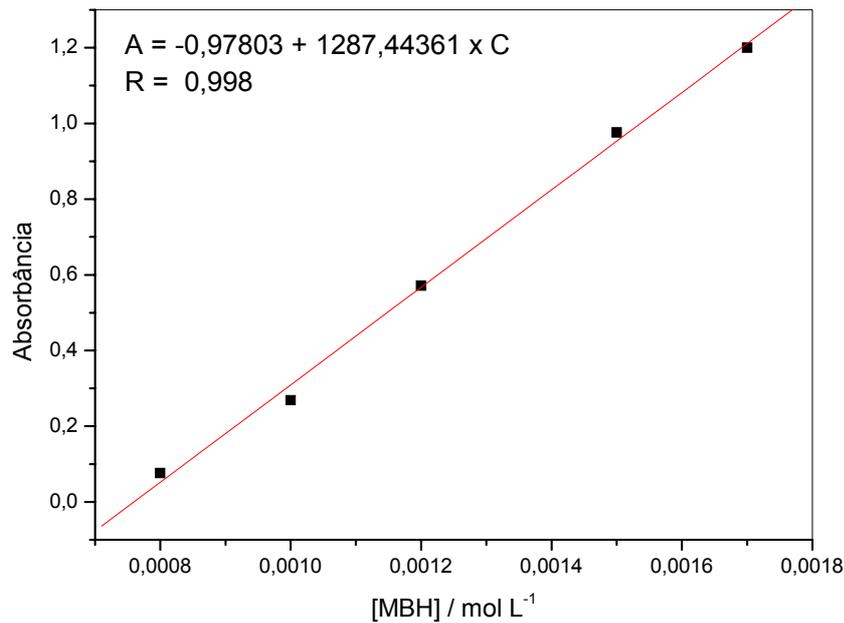


Figura 4.22- Curva analítica obtida no intervalo de concentração de metilbrometo de homotropina de $8,0 \times 10^{-4}$ a $1,7 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹.

Tabela 4.6- Determinação de metilbrometo de homotropina em formulações farmacêuticas pelo método turbidimétrico e o método comparativo.

Amostra	Metilbrometo de Homotropina (g/L)			Erro relativo (%)	
	Rotulado	Comparativo ⁷²	Turbidimétrico	E ₁	E ₂
A	2,00	1,98±0,01	1,94±0,03	-3,0	-2,0
B	2,00	1,97±0,02	2,01±0,02	0,5	2,0

n = 3

E₁ = erro relativo entre o método turbidimétrico e o valor rotulado;

E₂ = erro relativo aos métodos turbidimétrico e comparativo.

4.3. Titulação condutimétrica

O metilbrometo de homatropina foi titulado com solução de nitrato de prata sob agitação constante e temperatura controlada a 25°C. A Figura 4.23 apresenta a curva de titulação condutométrica de 10 mL de solução de metilbrometo de homatropina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ com o titulante nitrato de prata $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. O limite de detecção foi de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Como pode ser observado, a condutância permanece constante no início da titulação devido à condutância dos íons Br^- (presentes no início da titulação) e NO_3^- (adicionado) serem muito próximas, $78,4 \text{ } \Omega^{-1}$ e $71,4 \text{ } \Omega^{-1}$ respectivamente. Após a precipitação de todo $\text{AgBr}_{(s)}$ (volume de equivalência igual a 10 mL) a condutância passa a aumentar devido o excesso de AgNO_3 em solução. Como a reação é 1:1, todo o brometo consumido é proporcional a quantidade de metilbrometo de homatropina em solução. A reação está mostrada na Eq. 4.3.

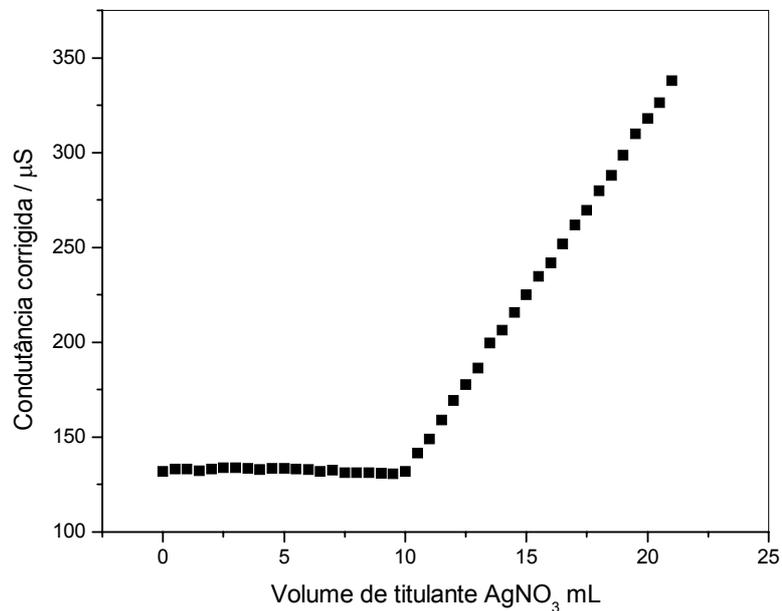


Figura 4.23- Curva de titulação condutométrica de 10 mL de solução de metilbrometo de homatropina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ nitrato de prata $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, agitação de 200 rpm e temperatura de 25°C.

4.3.1. Aplicação analítica

As curvas da titulação de 10 mL de solução de amostra com nitrato de prata $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ são apresentadas nas Figuras 4.24 e 4.25. Os valores encontrados foram comparados com os valores rotulados e são apresentados na Tabela 4.7.

Tabela 4.7- Determinação de metilbrometo de homatropina em formulações farmacêuticas pelo método condutimétrico e o valor rotulado.

Amostra	Metilbrometo de homatropina (g/L)		
	Rotulado	Condutométrico	Erro relativo (%)
A	2,00	$1,96 \pm 0,03$	-2,0
B	2,00	$1,94 \pm 0,05$	-3,0

n = 5

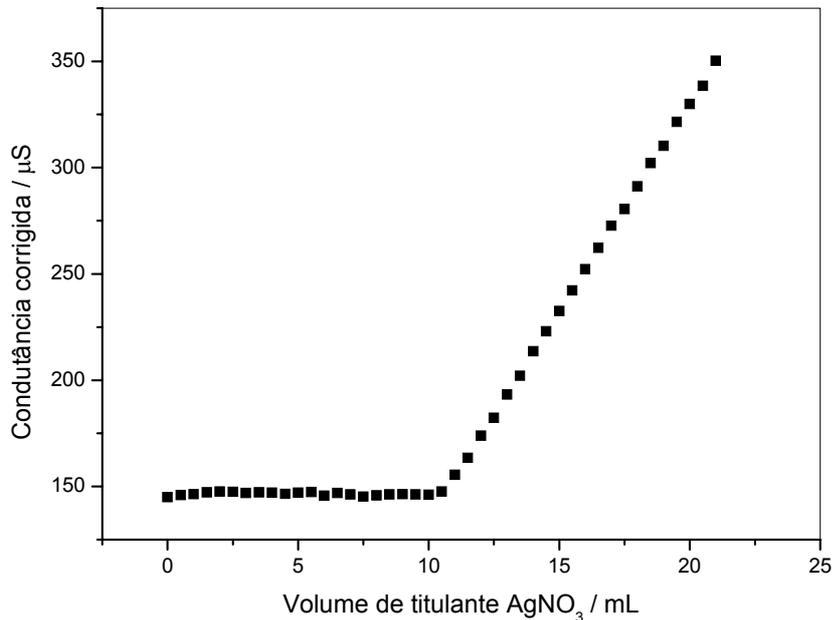


Figura 4.24- Curva de titulação condutométrica de 10 mL de solução da amostra A com nitrato de prata $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. $V_{\text{eq}} = 10,2 \text{ mL}$.

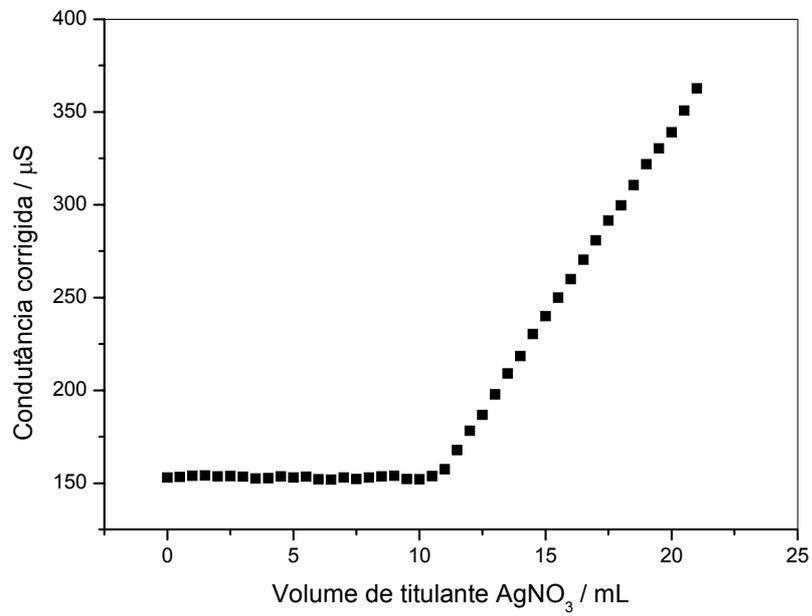


Figura 4.25- Curva de titulação condutométrica de 10 mL de solução da amostra B com nitrato de prata $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. $V_{\text{eq}} = 10,3 \text{ mL}$.

CAPÍTULO 5- CONCLUSÕES

O método turbidimétrico em fluxo desenvolvido nessa dissertação de mestrado empregando o ácido silicotúngstico como reagente de precipitação apresentou um intervalo de concentração de metilbrometo de homatropina de $8,1 \times 10^{-5}$ a $2,2 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e frequência de amostragem de 70 h⁻¹. Esse sistema em fluxo com detecção turbidimétrica foi aplicado na determinação dos teores de metilbrometo de homatropina em amostras de produtos farmacêuticos, sem interferência de excipientes existentes nesses produtos. Os resultados obtidos empregando-se o procedimento proposto estão em boa concordância com aqueles resultados obtidos empregando-se o procedimento da Farmacopéia Brasileira e também com os teores rotulados, além de apresentar boa precisão, exatidão, alta frequência de amostragem e consumo reduzido de reagentes (0,36 mg de ácido silicotúngstico por determinação).

O sistema em fluxo com detecção turbidimétrica empregando-se o nitrato de prata como reagente de precipitação apresentou um intervalo linear de concentração de metilbrometo de homatropina de $8,0 \times 10^{-4}$ a $1,7 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $9,5 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e frequência de amostragem 75 h⁻¹. Esse sistema em fluxo proposto também foi empregado com sucesso na determinação daquele fármaco com boa exatidão, precisão, sensibilidade e pequeno consumo de reagente (0,04.mg de AgNO₃ por determinação).

Finalizando, o emprego de nitrato de prata como titulante nas titulações condutométricas de metilbrometo de homatropina apresentou boa precisão e exatidão, consumo de reagente de 3,38 mg de AgNO₃ por determinação.

Estes métodos podem ser utilizados em laboratórios de controle de qualidade de produtos farmacêuticos no lugar de procedimentos de custo elevado, como os cromatográficos (HPLC ou CG-MS).

A Tabela 5.1 apresenta uma comparação entre os três métodos desenvolvidos na presente dissertação de mestrado.

Tabela 5.1 – Tabela de comparação entre os três métodos.

Procedimento proposto	Intervalo linear de concentração (mol L ⁻¹)	Frequência de amostragem	LD (mol L ⁻¹)	Consumo de reagente
Turbidimétrico em fluxo com ácido silicotúngstico como reagente precipitante	$2,2 \times 10^{-4} - 8,1 \times 10^{-5}$	70 h ⁻¹	$5,0 \times 10^{-6}$	0,36 mg por determinação
Turbidimétrico em fluxo com AgNO ₃ como reagente precipitante	$1,7 \times 10^{-3} - 8,0 \times 10^{-4}$	75 h ⁻¹	$9,5 \times 10^{-5}$	0,04 mg por determinação
Condutométrico com AgNO ₃ como reagente		40 min/amostra	$1,0 \times 10^{-4}$	3,38 mg por determinação

CAPÍTULO 6- ALGUMAS SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

Durante a realização deste trabalho de dissertação, surgiram algumas idéias que poderiam ser implementadas no desenvolvimento de novos trabalhos nesta mesma linha de pesquisa. Uma destas idéias é desenvolver um sistema em fluxo empregando nitrato de prata como reagente de precipitação do metilbrometo de homatropina e detecção condutométrica. Devido à sensibilidade desse tipo de detector, menores limites de detecção poderiam eventualmente ser obtidos com esses sistemas em fluxo.

Uma outra possibilidade que poderia ser investigada é a reação de metilbrometo de homatropina com o ácido silicotúngstico em fluxo e detecção condutométrica.

Como o tetrafenilborato precipita o metilbrometo de homatropina, formando um par-iônico de baixa solubilidade, o tetrafebilborato de sódio ($\text{NaB}\phi_4$), onde ϕ representa o grupo fenila, poderia ser empregado como reagente precipitante em sistemas de análise por injeção em fluxo com detecção turbidimétrica ou condutométrica. Empregando esse mesmo reagente como titulante, o mesmo poderia ser investigado em titulações condutométricas desse fármaco. Um eletrodo de membrana líquida contendo o material ativo ($[\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_3 \cdot \text{CH}_3][\text{B}\phi_4]$)⁶⁹ e um plastificante adequado como o dibutilftalado, dioctilftalato etc poderiam ser empregado em determinações de metilbrometo de homatropina em análises por injeção em fluxo.

Apesar de demandarem tempos longos de análise, métodos gravimétricos empregando aqueles dois reagentes de precipitação poderiam ser investigados para a determinação de metilbrometo de homatropina.

Finalizando-se, esses reagentes precipitantes poderiam ser empregados em sistemas de análise por injeção em fluxo para outros fármacos derivados da atropina e/ou escopolamina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1-GOODMAN, G. A.; RALL, W. T.; NIES, S. A., *The pharmacological basis of therapeutic*, 8. Ed, New York, Mcgraw-Hill, 1992, p. 99-107.
- 2-KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J. H.; *Química farmacêutica*, Guanabara Dois, Rio de Janeiro, 1982, pp.25, 27, 30, 302-30
- 3-PATRICK, G. L., *An Introduction to Medical Chemistry*, New York, Oxford University Press, 1995, p. 223-225.
- 4-ASSENCIO-FERREIRA, V. J., Manifestações neurológicas na intoxicação de lactentes pela associação dometicona e homatropina. *Arq. Neuropsiquiatr.*, **59 (2A)**: 238, 2001.
- 5-LÜLHMANN, H.; MOHR, K.; *Farmacologia-Texto e Atlas*. Artmed Editora, Porto Alegre, 2004, p.105.
- 6-RENGSTORFF, R. H.; DOUGHTY, C. B., Mydriatic and cycloplegic drugs: a review of ocular and systemic complication. *Am. J. Optom Physiol. Opt.*, **59**: 162, 1982.
- 7-TUNE, L. F.; BYLSMA, F. W.; HILT, D. C.; Anticholinergic delirium caused by topical homatropine ophthalmologic solutions: confirmation by anticholinergic radioreceptor assay in two cases. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.*, **4**: 195, 1992.
- 8-GIOLITO, I., Métodos Eletrométricos e Eletroanalíticos: Fundamentos e Aplicações, 2 Ed., São Paulo, multitec coordenadoria de treinamento técnico, 1980, p. 118-125.
- 9-RUZCKA, J. G.; HANSEN, E. H., *Flow Injection Análisis*, New York, J. Wiley, 1988.
- 10-REIS, B. F.; GINÉ, M. F.; KRONKA, E. A. M., A análise química por injeção em fluxo, *Quim. Nova*, **12**: 82, 1989.
- 11-MEIOS E MÉTODOS, Análises químicas por injeção em fluxo, **VII(41)**, junho 1984.
- 12-REIS, B. F.; BERGAMIN-FILHO, H., Evolução dos injetores empregados em sistemas de análise por injeção em fluxo, *Quim. Nova*, **16**: 570, 1993.
- 13-INGLE-JÚNIOR, J. D.; CROUCH, S. R., *Spectrochemical Analysis*, New Jersey, Prentice Hall, 1988, p. 513-515.
- 14-WILLARD, H.; MERRITT, L.; DEAN, J., *Análise instrumental*, 2. ed., Lisboa, Fundação Calouste Gurbenkian, 122 p., 1974.
- 15-RUZICKA, J.; HANSEN, E. H, flow injection analysis. Parte I. A new concept of fast continuous flow. *Anal. Biochem.* , **78**: 145, 1975.

- 16-STWEWART, K. K.; BEECHER, G. R.; HARE, P. E., Rapid analysis of discrete sample: the use of nonsegmented, continuous flow. *Anal. Biochem*, **70(1)**: 167, 1976.
- 17-WEIMARN, V. P. P., Status of turbidimetric measurements. *Chem. Rev*, **2**: 217, 1926.
- 18-SKEGGS, L. T., An automatic method for colorimetric analysis. *J. Clin. Pathol*, **28**: 311, 1957.
- 19-KRUG, F. J.; BERGAMIN, F^o; ZAGATTO, G. A.; JORGENSEN, S. S., Rapid determination of sulphate in natural waters and plant digests by continuous flow injection turbidimetry. *Analyst*, **102**: 503, 1977.
- 20-KRUG, F. J.; ZAGATTO, E. A. G.; REIS, B. F.; BAHIA, F.; JACINTO, A. O., Turbidimetric determination of sulphate in digests and natural waters by flow injection analysis with alternating streams. *Anal. Chim. Acta*, **145**: 179, 1983.
- 21-BRIENZA, B. M. S.; KRUG, F. J.; GOMES-NETO, A. J.; NOGUEIRA, A. R. A.; ZAGATTO, G. E. A., Turbidimetric flow analysis. *J. Flow Injection Anal.*, **10 (2)**: 186, 1993.
- 22- BRIENZA, B. M. S.; SARTINI, R. P.; GOMES, J. A. N.; ZAGATTO, E. A. G., Crystal seeding in flow-injection turbidimetry: Determination of total sulfur in plants. *Anal. Chim. Acta*, **308 (3)**: 269, 1995.
- 23-SANTELLI, E. R.; LOPES, S. R. P.; SANTELLI, L. C. L.; WAGENER, R. L. A., Turbidimetric determination of sulphate in waters employing flow injection and lead sulphate formation. *Anal. Chim. Acta*, **300**: 149, 1995.
- 24-MARTÍNEZ CALATAYUD, J.; CAMPING, P. F.; SÁNCHEZ, S. P., Turbidimetric determination of chlorhexidine using flow injection analysis. *Analyst*, **112 (1)**: 87, 1987.
- 25-TUBINO, M.; TORRES, J. R. O., Turbidimetric determination of potassium by flow-injection analysis. *Anal. Lett.*, **27 (8)**: 1625, 1994.
- 26-MARTÍNEZ CALATAYUD, J.; MARTÍNEZ, C. P., Determination of amitriptyline with bromocresol purple and flow-injection analysis. *Anal. Lett.*, **23 (8)**: 1371, 1990.
- 27-COSTA-NETO, C. O.; PEREIRA, A. V.; ANICETO, C.; FATIBELO FILHO, O., Flow injection turbidimetric determination of thiamine in pharmaceutical formulations using silicotungstic acid as precipitant reagent. *Talanta*, **48 (3)**: 659, 1999.
- 28-DINIZ, M. C. T.; OLIVEIRA, A. F.; FATIBELLO FILHO, O., Turbidimetric determination of orthophosphate in digested plant material by flow-injection analysis. *Laboratory Robotics and Automation*, **12 (5)**: 264, 2000.
- 29-FARAJZADEH, M. A.; NAGIZADEH, S., A new simple and accurate turbidimetric method for determination of ascorbic acid in pharmaceuticals and fruits. *Journal of the Chinese Chemical Society*, **49 (5)**: 949, 2002.

- 30-PANIZ, J. N. G.; FLORES, E. M. M.; DRESSLER, V.L.; MARTINS, A. F., Flow injection turbidimetric determination of total organic carbon with a gas-liquid transfer microreactor. *Anal. Chim. Acta*, **445 (2)**: 139, 2001.
- 31-ZAITSU, T.; MAEHARA, M.; TOEI, K., Flow-injection analysis by using turbidimetry for chloride in river water. *Bunseki Kagaku*, **33 (3)**: 149, 1984
- 32-MARTÍNEZ CALATAYUD, J.; CAMPÍNS FALCÓ, P., Spectrophotometric determination of chlorhexidine with bromocresol green by flow-injection and manual methods. *Anal. Chim. Acta*, **188**: 323, 1986.
- 33-MARTÍNEZ CALATAYUD, J.; SANCHEZ SAMPEDRO, A.; NAVASQUILHO SARRIÓN, S., Determination of diphenhydramine hydrochloride by flow injection with bromophenol blue and turbidimetric measurement. *Analyst*, **115**: 855, 1990.
- 34-MARTÍNEZ CALATAYUD, J.; SANCHEZ SAMPEDRO, A., Turbidimetric determination of phenformin by a flow-injection analysis. *Analisis*, **17**: 413, 1989.
- 35-MARTÍNEZ CALATAYUD, J.; CAMPÍNS FALCÓ, P., Determination of levamisole hydrochloride with HgI_4^{2-} by a turbidimetric method and flow-injection analysis. *Talanta*, **33**: 685, 1986.
- 36-LIMA, J. L. F. C.; RANGEL, A. O. S. S.; SOUTO, M. R. S.; ZAGATTO, E. A. G., Turbidimetric flow-injection determination of total nitrogen and potassium in vegetables. *Anal. Chim. Acta*, **356 (2-3)**: 259, 1997.
- 37-MARTÍNEZ CALATAYUD, J.; SANCHEZ SAMPEDRO, A.; NAVASQUILHO SARRIÓN, S.; GÓMEZ BENITO, C., Determination of promethazine hydrochloride with bromophenol blue by a turbidimetric method and flow-injection analysis. *Microchem. J.*, **45**: 129, 1992.
- 38-FREITAG, R.; SCHEPER, T.; SCHUGERL, K. Development of a turbidimetric immunoassay for online monitoring of proteins in cultivation processes. *Enzyme and Microb. Technol.*, **13 (12)**: 969, 1991.
- 39-FREITAG, R.; FENGE, C.; SCHEPER, T.; SCHUGERL, K.; SPREINAT, A.; ANTRANIKIAN, G.; FRAUNE, E., Immunological online detection of specific proteins during. *Anal. Chim. Acta*, **249 (1)**: 113-122, 1991.
- 40-FREITAG, R.; SCHEPER, T.; SPREINAT, A.; ANTRANIKIAN, G., Online monitoring of pullulanase production during continuous culture of *Clostridium-thermosulfurogenes*. *Appl. Microbiol. and Biotechnol.*, **35 (4)**: 471, 1991.
- 41-SANTOS-FILHA, M. M.; REIS, B. F.; COLLINS, C.H.; BACCAN, N., Sulfate preconcentration by anion-exchange resin in flow-injection and its turbidimetric determination in water. *Talanta*, **40 (10)**: 1529, 1993.

- 42-MORAIS, I. P. A.; RANGEL, A. O. S. S.; SOUTO, M. R. S., Determination of sulfate in natural and residual waters by turbidimetric flow-injection analysis. *J. of AOAC International*, **84 (1)**: 59, 2001.
- 43-CRNKOVIC, P. M.; JACINTHO, A. O., Use of a reagent in suspension in flow injection analysis. Spectrophotometric determination of sulphate in natural water. *Quim. Nova*, **25 (2)**: 254, 2002.
- 44-SILVA, H. R.; SEGUNDO, M. A.; RANGEL, A. O. S. S., Use of a mixing chamber for sample preparation and multiple collection in sequential injection analysis: Determination of sulfate in wines. *J. of the Braz. Chem. Soc.*, **14 (1)**: 59, 2003.
- 45-MATEUS, L; CHERKAOUI, S; CHRISTEN, P; VEUTHEY, J. L., Capillary eletrophoresis for the analysis of tropane alkaloids: pharmaceutical and phytochemical applications. *J. of Pharm. and Biom. Anal.*, **18(4-5)**: 815, 1998.
- 46-CHERKAOUI, S; MATEUS, L; CHRISTEN, P; VEUTHEY, J. L., Validated capillary eletrophoresis method for the determination of atropine and scopolamine derivatives in pharmaceutical formulations. *J. of Pharm. and Biom. Anal.*, **17 (6-7)**:1167, 1998.
- 47-CHERKAOUI, S; MATEUS, L; CHRISTEN, P; VEUTHEY, J. L., Development and validation of a capillary zone eletrophoresis method for the determination of atropine, homatropine and scopolamine in ophthalmic solutions. *J. of Chromat. B*, **696 (2)**: 283, 1997.
- 48-JIN, L. J.; WANG, Y.; XU, R.; GO, M. L.; LEE, H. K.; LI, S. F. Y., Chiral resolution of atropine, homatropine and eight synthetic tropinyl and piperidinyl esters by capillary zone eletrophoresis with cyclodextrin additives. *Eletrophoresis*, **20 (1)**: 198, 1999.
- 49-EEVA, M.; SALO, J. P.; OKSMAN-CALDENTY, K. M., Determination of the main tropane alkaloids from transformed hyoscyamus muticus plants by capillary zone eletrophoresis. *J. of Pharm. and Biom. Anal.*, **16 (5)**: 717, 1998.
- 50-VENKATESHWARAN, T. G.; KING, D. T.; STEWART, J. T., HPLC Determination of ondansetron-atropine and ondansetron-glycopyrrolate mixtures in 0.9-percent sodium-chloride injection. *J. of Liquid Chromatography*, **18 (13)**: 2647, 1995.
- 51-LAU, O. W.; MOK, C. S., High-performance liquid-chromatographic determination of atropine and atropine-like alkaloids in pharmaceutical preparation with indirect conductometric detection. *J. of Chromatography*, **766 (1-2)**: 270, 1997.
- 52-LEHR, G. J.; YUEN, S. M.; LAWRENCE, G. D., Liquid-Chromatographic determination of atropine in nerve-gas antidotes and other dosage forms. *J. of AOAC International*, **78 (2)**: 339, 1995.
- 53-TAKAHASHI, M.; NAGASHIMA, M.; SHIGEOKA, S.; NISHIJIMA, M.; KAMATA, K., Determination of atropine in pharmaceutical preparations by liquid chromatography with fluorescence detection. *J. of Chromatography A*, **775(1-2)**: 137, 1997.

- 54-LEHR, G. J., Determination of diphenoxylate hydrochloride and atropine sulfate in combination drug formulations by liquid chromatography. *J. of AOAC International*, **79 (6)**: 1288, 1996.
- 55-CIERI, U. R., Determination of small quantities of atropine in commercial preparations by liquid-chromatography with fluorescence detection. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **68 (5)**: 1042, 1985.
- 56-SAADY, J. J.; POKLIS, A., Determination of atropine in blood by gas-chromatography mass-spectrometry. *J. of Anal. Toxicology*, **13 (5)**: 296, 1989.
- 57-ALCADA, M. N. M. P.; LIMA, J. L. F. C.; MONTENEGRO, M. C. B. S., Construction and evaluation of tetraphenylborate anion-selective electrodes-its application in determination of alkaloids in pharmaceutical products. *Farmaco*, **49 (11)**: 721, 1994.
- 58-HASSAN, S. S. M.; AHMED, M. A.; TADROS, F. S., New liquid-membrane electrodes for direct determination of atropine in pharmaceutical preparations. *Talanta*, **34 (8)**: 723, 1987.
- 59-KORANY, M. A.; MAHGOUB, H., Spectrophotometric determination of atropine sulfate and nystatin in presence of other drugs using orthogonal polynomials for unequal intervals. *Pharmazie*, **46 (12)**: 883, 1991.
- 60-WAHBI, A. A. M.; BARARY, M., Spectrophotometric determination of atropine sulfate in the presence of phenylmercury (II) acetate. *J. Assoc. Off. Anal. Chem*, **64 (4)**: 855, 1981.
- 61-ELSHAHAT, M. F.; BADEI, M. M. A.; DAIFULLAH, A. A. M., Spectrophotometric determination of ephedrine HCl, cinchonine HCl, chlorpheniramine maleate, atropine sulfate and diphenhydramine HCl by solvent-extraction of reineckate complexes. *J of Chem. Techn. and Biotechn.*, **54 (2)**: 175, 1992.
- 62-AMAN, T.; HASSAN, A.; KHOKHAR, I.; RASHID, A., Spectrophotometric determination of atropine. *Anal. Lett.*, **27 (10)**: 1833, 1994.
- 63-WANG, Y.; SUN, H.; JIANG, X., AN, D., Double-wavelength simultaneous equation spectrophotometric determination of the contents of atropine sulphate and homatropina hydrobromide in eye-drops. *Yaoxue-Tongbao*, **22 (10)**: 605, 1987.
- 64-MAJLAT, P.; HELBOE, P.; KRISTENSEN, A. K., Separation and quantitative-determination of homatropine methylbromide and opium-alkaloids in admixture in pharmaceutical preparations by gas-liquid and high-performance liquid-chromatography. *Int. J. Pharm*, **9 (3)**: 245, 1981.
- 65-GRABOWSK, B. F.; SOFTLY, B. J.; CHANG, B. L.; HANEY, W. G., GLC analysis of homatropine methylbromide in tablets and elixirs. *J. of Pharmac. Scien.*, **62 (5)**: 806, 1973.

- 66-MILLERSHIP, J. S., Interference of mandelic-acid with the determination of homatropine hydrobromide by 2nd-order derivate spectroscopy. *J. of Pharm. and Biom. Anal.*, **13 (6)**: 795, 1995.
- 67-HANNA, S.; ROSEN, M.; RASERO, L>; LACHMAN, L., Analysis of homatropine methylbromide dosage forms. *J. of Pharmac. Scien.*, **66(1)**: 123, 1977.
- 68-BANDELIN, F. J., The colorimetric determination of homatropine methylbromide. *J. of the Am. Pharm. Assoc. Scien. Edit.*, **37 (1)**: 10, 1948.
- 69-LI, B.; ZHANG, Z.; YOU, X.; LU, T.; YIN, G., PVC membrane electrodes of anisodamine, N-butylscopolamine [hyoscine butylbromide] and homatropine. *Analyst*, **113(1)**: 57, 1998.
- 70-The United States Pharmacopeia- The National Formulary - USP-23, NF-18, 1995, p. 744-745.
- 71-OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS, 40^a ed, 1984, p.739
- 72-FARMACOPÉIA BRASILEIRA, método 239, 2003