

## **Caracterização de fármacos por cromatografia em camada delgada**

### *Drugs Characterization by Thin Layer Chromatography*

Renata Sano Lini, Caroline Tomoike, Evanilde de Oliveira Froemming, Érika Bando, Gessilda A. Nogueira de Melo, Simone A. Galerani Mossini & Paula Nishiyama

Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil.

Simone Aparecida Galerani Mossini, [simonegmossini@yahoo.com.br](mailto:simonegmossini@yahoo.com.br) Av. Colombo, 5790 (Bloco J01) – Jardim Universitário. CEP: 87020-900. Fone: (44)3011-4489

## **RESUMO**

Os fármacos bromazepam, flunitrazepam, cloridrato de fluoxetina, clozapina e risperidona apesar da relevância clínica não possuem perfil cromatográfico caracterizado na literatura. O método de triagem por cromatografia em camada delgada (CCD) foi escolhido por ser uma técnica de baixo custo, simples e acessível a todos os laboratórios. Foram utilizados dois diferentes sistemas solventes, os fármacos clonazepam, fenobarbital e lorazepam como controle ácido, carbamazepina, amitriptilina e clorpromazina como controle básico, e como controle neutro o diazepam. As leituras das cromatoplasmas foram realizadas após visualização sob luz UV e revelação com diferentes agentes cromogênicos. Os resultados foram expressos como valores de  $R_f$ , visualização sob luz UV, padrão e intensidade de coloração após revelação das cromatoplasmas. Os fármacos bromazepam e flunitrazepam foram caracterizados como apresentando caráter neutro, e os fármacos cloridrato de fluoxetina, clozapina e risperidona como apresentando caráter básico. A técnica de CCD mostrou-se reprodutível, rápida, permitindo padronizar o comportamento dos fármacos, selecionados em função da relevância clínica, e analisar os agentes cromogênicos mais adequados para revelação. A caracterização do perfil cromatográfico dos fármacos bromazepam, flunitrazepam, cloridrato de fluoxetina, clozapina e risperidona poderá facilitar e tornar mais rápido o reconhecimento do fármaco eventualmente extraído de amostras biológicas.

**Palavras-chave:** Análise toxicológica, Cromatografia em camada delgada, Fármacos.

## **ABSTRACT**

Despite the clinical relevance of the drugs bromazepam, flunitrazepam, fluoxetine hydrochloride, clozapine and risperidone they have no chromatographic profile characterized in the literature. The TLC screening method was chosen because it is a low cost, simple and accessible technique to all laboratories. Clonazepam, lorazepam and phenobarbital were used as control acid drugs. Carbamazepine, amitriptyline and chlorpromazine were used as basic control drugs and diazepam as neutral control. The readings were taken after viewing the thin-layer chromatoplates under UV light and revelation with different chromogenic agents. The results were expressed as hRf values, visualization under UV light, pattern and intensity of color reactions after thin-layer chromatoplates development. The drugs bromazepam and flunitrazepam were characterized as having a neutral character, and fluoxetine hydrochloride, clozapine and risperidone as presenting basic character. TLC technique has allowed to standardize the chromatographic parameters of drugs selected based on clinical relevance and to analyze the most appropriate chromogenic agents for revelation. The chromatographic profile characterization of the drugs bromazepam, flunitrazepam, fluoxetine hydrochloride, clozapine and risperidone can facilitate and streamline the drug recognition, eventually extracted from biological samples.

**Keywords:** Toxicological analysis, Thin layer chromatography, Drugs.

## INTRODUÇÃO

As intoxicações são causas freqüentes de procura de atendimento médico em serviços de urgência e emergência no Brasil, sendo muitos dos casos relacionados às tentativas de suicídio ou envolvendo crianças e idosos que se expuseram a doses acima da terapêutica, resultando em concentrações tóxicas na corrente sanguínea. No Brasil, as intoxicações envolvendo medicamentos alcançam o primeiro lugar como agente causal (Amaral *et al.*, 2008; SINITOX, 2008; Margonato *et al.*, 2008, Mota *et al.*, 2012). O acentuado desenvolvimento da indústria farmacêutica, química e biotecnológica nas últimas décadas tem sido um dos fatores que desencadeou a produção desmedida e a comercialização de novos compostos, com destaque para os medicamentos. Esse cenário tem gerado efeitos deletérios sobre a saúde humana, agravados pela automedicação, erros de dosagens, entre outros (Moreau & Siqueira, 2008; Margonato *et al.*, 2008; Mota *et al.*, 2012). Essa evolução tecnológica ampliou o trabalho relacionado ao atendimento de urgência, não apenas com foco no desenvolvimento de novas metodologias, mas também no aprimoramento de métodos já existentes e que trazem bons resultados com baixo custo.

As dosagens de substâncias no sangue, urina ou lavado gástrico são muito úteis no diagnóstico, prognóstico e acompanhamento do paciente intoxicado. O fato dos medicamentos serem apontados como a principal causa das intoxicações no Brasil nas últimas décadas (Moreau & Siqueira, 2008; Amaral *et al.*, 2008; Margonato *et al.*, 2008; SINITOX, 2008; Mota *et al.*, 2012), aumenta o desafio dos laboratórios de análises toxicológicas, a desenvolverem metodologias analíticas para a pronta pesquisa e identificação de fármacos envolvidos nos casos de intoxicação aguda. Estas pesquisas requerem uma abordagem analítica ampla, rápida e segura em material biológico. A investigação de fármacos é provavelmente a mais freqüente dos testes toxicológicos requisitados, e dependendo do fármaco, das suas características farmacotoxicológicas, e do tempo decorrido da exposição, pode ser detectado na forma inalterada

ou biotransformada em sangue ou na urina (Cardoso *et al.*, 2001; Moreira & Caldas, 2001; Amaral *et al.*, 2008).

A importância da escolha de um método de triagem é fundamental, pois define a gama de analitos que serão pesquisados e detectados. Portanto, deverá ter sensibilidade e abrangência de compostos para ser eficiente (Moreau & Siqueira, 2008).

Apesar da existência de metodologias de análise modernas com alta especificidade e elevada sensibilidade, grande parte dos laboratórios de toxicologia analítica ainda utilizam métodos clássicos, como a cromatografia em camada delgada (CCD) (Linden *et al.*, 2007). A técnica de CCD é considerada como método de escolha para a triagem de substâncias desconhecidas devido a sua velocidade, confiabilidade, simplicidade, baixo custo e habilidade de gerar parâmetros como cor e fator de retenção (Rf), freqüentemente expresso multiplicado por 100 (hRf), em um curto intervalo de tempo, sendo considerada uma técnica de triagem mais abrangente que os imunoenaios (Linden *et al.*, 2007; Moreau & Siqueira, 2008).

Entre os medicamentos, os anticonvulsivantes, sedativos, antiparkinsonianos e psicotrópicos são os maiores responsáveis por intoxicações graves e de emergência e respondem pela maioria dos óbitos por autointoxicação intencional (Mota *et al.*, 2012). Por isso é de grande importância conhecer o caráter dos fármacos para facilitar o trabalho de diagnóstico em casos de intoxicações agudas. Sendo os fármacos, compostos orgânicos, passíveis de separação e identificação por esta técnica o presente trabalho teve como objetivo caracterizar o perfil ácido, básico ou neutro de alguns fármacos, comumente envolvido em intoxicações, cujo perfil não se encontra descrito na literatura e analisar os agentes cromogênicos mais adequados para revelação.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Inicialmente foram selecionados 12 fármacos para a realização deste trabalho. A seleção foi baseada na relevância clínica, nos casos de intoxicações agudas encontradas no banco de dados do Centro de Controle de Intoxicações de Maringá, na disponibilidade de padrões dos fármacos no Laboratório de Toxicologia e na ausência de perfil cromatográfico descrito na literatura para os fármacos bromazepam, clozapina, clorfluoxetina, flunitrazepam e risperidona.

Como padrões de caráter ácido foram preparados soluções-padrão a 0,2% em clorofórmio-éter (3:1) dos fármacos fenobarbital, clonazepam e lorazepam. Para preparação de padrões de caráter básico foram utilizados os fármacos amitriptilina, carbamazepina e clorpromazina e como padrão de caráter neutro, diazepam. Como fármacos de caráter desconhecido foram padronizados bromazepam, clozapina, clorfluoxetina, flunitrazepam e risperidona. Após preparo as soluções foram submetidas à evaporação e o resíduo armazenado em freezer. Para a padronização estabelecida foi realizada a extração líquido-líquido das soluções-padrão ressuspensas em 5 mL de água destilada. O pH foi ajustado para garantir que o fármaco se apresentasse na forma molecular, com maior afinidade pelo solvente orgânico, extraído dessa forma, fármacos de caráter ácido em pH ácido e vice-versa para os básicos. A extração ácida foi realizada, após ajuste do pH por meio da solução de ácido clorídrico 6M, com 5mL da mistura clorofórmio: isopropanol (95:5), sendo a fase aquosa desprezada e a orgânica separada para posterior evaporação. Para realização da extração básica, após ajuste do pH por meio da solução de hidróxido de sódio 2%, foram adicionados 5mL da mistura clorofórmio: éter etílico (3:1), sendo a fase aquosa desprezada e a orgânica separada para posterior evaporação.

Após a realização de extrações ácida e básica o solvente orgânico foi evaporado, o novo resíduo ressuspensado em clorofórmio-éter (3:1), facilitando a transferência, com auxílio de capilares, para 4 cromatoplasmas revestidas com sílica gel G (2 ácidas e 2 básicas). As cromatoplasmas foram colocadas em cubas cromatográficas de vidro contendo fase móvel (na altura de 1 cm no interior do recipiente). A corrida cromatográfica deu-se em aproximadamente 20 minutos, onde posteriormente as placas foram retiradas e levadas à estufa para processo de secagem (5 minutos). Os sistemas solventes utilizados foram clorofórmio:acetona (4:1) e clorofórmio:metanol (9:1). Todos os fármacos citados foram desenvolvidos nos dois sistemas, sendo aplicados 10 µL (20 µg) de cada solução padrão. A leitura das placas foi realizada por meio da visualização sob luz ultravioleta, nos comprimentos de onda de 254 nm e 366nm, seguida de nebulização com diferentes reveladores químicos (agentes cromogênicos). Os sistemas solventes e a sequência de reveladores foram selecionados de acordo com os mais indicados para as substâncias de caráter ácido, básico e neutro (Moraes & Sznalwar, 1987; Moraes, 1988; Moraes et al., 1991).

As placas cromatográficas desenvolvidas no sistema solvente clorofórmio:acetona foram reveladas com três sequências de reveladores, cloreto férrico 5% ( $\text{FeCl}_3$ ) seguido do reativo de Dragendorff iodado (DI), nitrato mercúrico ( $\text{HgNO}_3$ ) seguido de solução de difenilcarbazona em etanol (DFCet) e sulfato mercúrico ( $\text{HgSO}_4$ ) seguido de solução de difenilcarbazona em clorofórmio (DFCclo). Para as placas cromatográficas desenvolvidas no sistema solvente clorofórmio:metanol foram utilizadas quatro sequências de reveladores, verde de bromocresol (VBC) preparado em água, seguido de p-nitroanilina diazotada (DCpn), DI seguido de solução de nitrito de sódio ( $\text{NaNO}_2$ ) 1%, solução de VBC preparado em etanol, seguido de p-nitroanilina diazotada (DCpn) e DI seguido de solução de nitrito de sódio ( $\text{NaNO}_2$ ) 5%.

Os resultados foram expressos como valores de hRf, visibilidade sob luz UV, padrão e intensidade de coloração após revelação das cromatoplasmas. Foram realizadas 10 repetições para cada fármaco e os resultados obtidos foram organizados em tabelas. A partir dos valores obtidos foram calculados a média e o desvio padrão para cada fármaco.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A CCD é uma técnica simples, largamente utilizada quando se faz necessário a identificação ou confirmação de uma intoxicação aguda, ou ainda, no subsídio do tratamento ao paciente intoxicado (Moreau & Siqueira, 2008). Nesta técnica a separação das substâncias ocorre devido à diferença de polaridade que cada uma apresenta, ou seja, o composto que interage mais com a fase estacionária (sílica gel) percorre uma distância menor do que o composto que tem maior interação pela fase móvel ou sistema solvente (Degani *et al.*, 1998). Entretanto, uma boa separação depende do sistema solvente escolhido, sendo que uma mistura de solventes para a fase móvel garante uma melhor separação dos compostos (Siqueira *et al.*, 2003; Collins *et al.*, 2006).

Os resultados das extrações ácida (Tabela 1) e das extrações básica (Tabela 2) foram expressos em tabelas contendo os valores de hRf, correspondentes a média dos valores encontrados em 10 determinações, cor e intensidade e leitura sob luz UV.

Tabela 1 – Comportamento dos fármacos desenvolvidos no sistema eluente clorofórmio:acetona frente a três seqüências de reveladores

FÁRMACOS	UV	hRf	FeCl <sub>3</sub> → DI	HgNO <sub>3</sub> → DFCet	HgSO <sub>4</sub> → DFCclo			
Amitriptilina	-	-	-	-	-	-	-	-
Bromazepam	+	1,9±0,2 8	-	Mr+++ +	Br++	Az+++	-	-
Carbamazepina	-	3,0±0,5 2	-	Cs+++ +	-	-	-	-
Clonazepam	-	4,4±0,3 9	-	Mr+	-	-	-	-
Clorfluoxetina	-	-	-	-	-	-	-	-
Clorpromazina	-	-	-	-	-	-	-	-
Clozapina	-	-	-	-	-	-	-	-
Diazepam	+	7,0±0,5 5	-	Cs+++	-	-	-	-
Fenobarbital	-	5,1±0,6 9	-	-	Br++	Rx++++	Br++ +	Rx+++
Flunitrazepam	+	6,6±0,6 2	-	Cs++	-	-	-	-
Lorazepam	+	2,4±0,3 3	-	-	Br+++	Rx+++	-	-
Risperidona	-	-	-	-	-	-	-	-

Legendas: Mr = marrom, Cs = castanho, Br = branco, Az = azul, (+) = fraco, (++) = evidente, (+++) = forte, (++++) = fortíssimo, (-) = não detectado.



**Tabela 2 – Comportamento dos fármacos desenvolvidos no sistema eluente clorofórmio:metanol frente a quatro seqüências de reveladores**

FÁRMACOS	UV	hrf	VBC (água)	DCPN	DI	NaNO <sub>2</sub> (1%)	VCB (etanol)	DCPN	DI	NaNO <sub>2</sub> (5%)
Amitriptilina	-	5,4±0,84	Az++	Br++	Cs++	-	Az+++	Am++	Cs++	-
Bromazepam	+	6,0±0,94	-	-	Mr+++	-	-	-	Mr+++	-
Carbamazepina	+	6,3±0,57	Br++	Br+	Cs++++	Cs+++	-	-	Cs++++	Cs++++
Clonazepam	+	6,0±0,81	Br+	-	Cs++	-	-	-	Cs++	-
Clorfluoxetina	-	1,6±0,47	Br++++	Br+++	Cs+	-	Az+++	Am++	Cs+	-
Clorpromazina	-	5,0±0,54	Az++	Am++	Cs+	-	-	-	Cs+	-
Clozapina	-	6,1±0,29	-	-	Cs+	-	-	-	Cs+	-
Diazepam	+	7,9±0,72	Br+	-	Cs++	-	-	-	Cs++	-
Fenobarbital	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flunitrazepam	-	8,4±0,37	-	-	Cs+	-	-	-	Cs+	-
Lorazepam	+	5,8±0,68	Br++++	Br++++	Cs+++	-	-	-	Cs+++	-
Risperidona	-	5,5±0,73	-	-	Cs++	-	-	-	Cs++	-

Legenda: Az = azul, Am = amarelo, Br = branco, Cs = castanho, Mr = marrom, (+) = fraco, (++) = evidente, +++=forte, ++++=fortíssimo, -, =não detectado.

As cromatoplasmas desenvolvidas no sistema solvente clorofórmio:acetona foram reveladas de acordo com o descrito em materiais e métodos. Os íons férricos presentes na solução de  $\text{FeCl}_3$  formam complexos coloridos com a maioria dos fenóis e ácidos hidroxâmicos, como os fármacos testados não possuem esses grupamentos não apresentaram resultados positivos frente a esse revelador. O reativo DI é um revelador geral identificando substâncias de caráter ácido, básico e neutro, além de revelar alcalóides e compostos contendo nitrogênio (Moreau & Siqueira, 2008), produzindo manchas que variam desde o marrom escuro ao castanho claro. Na padronização proposta, quando aplicado após a nebulização da solução de cloreto férrico, em placas desenvolvidas no sistema solvente clorofórmio:acetona, somente os fármacos bromazepam, carbamazepina, clonazepam, diazepam e flunitrazepam foram revelados (Tabela 1).

O mercúrio, presente na solução de  $\text{HgNO}_3$ , reage com compostos que apresentam anel imida em sua estrutura, como os fármacos fenobarbital, lorazepam e bromazepam, formando manchas brancas (Moreau & Siqueira, 2008). A revelação sequencial com a solução de DFC em etanol (DFCet) evidencia os complexos formados com o mercúrio formando manchas de cor azul-violeta (Ohweiler, 1974) (Tabela 1).

Quando a revelação foi realizada com sulfato mercurioso ( $\text{HgSO}_4$ ) (Moraes et al., 1991), somente o fármaco fenobarbital pode ser observado. O  $\text{HgSO}_4$  apresenta a mesma função da solução de  $\text{HgNO}_3$ , sendo também utilizado na revelação de barbitúricos e outros compostos que apresentem anel imida, formando manchas brancas (Moreau & Siqueira, 2008). A utilização, em seguida da solução de DFCclo, também evidenciou somente o fenobarbital por meio da formação de manchas de cor azul-violeta (Ohweiler, 1974) (Tabela 1). Apesar da solução de DFCclo ter propiciado a revelação de apenas um fármaco, a mesma apresentou uma vantagem frente à solução preparada em etanol, pois ao ser submetida a secagem em estufa o fundo da placa torna-se branco após a evaporação do solvente, facilitando a leitura das manchas de cor azul-violeta. Já a solução de DFCet deixa a placa cromatográfica com coloração roxa e as manchas formadas por este reagente com o mercúrio são de cor azul-violeta o que dificulta a visualização. O uso da solução de DFCclo mostrou, portanto, vantagens em relação à visualização e leitura das placas, quando comparado à solução de DFC preparada em etanol. Entretanto o uso de  $\text{HgSO}_4$  não

apresentou vantagens quando comparado à solução de  $\text{HgNO}_3$ , revelando somente um dos fármacos em estudo (Tabela 1).

A Tabela 2 mostra os resultados obtidos com as cromatoplasmas desenvolvidas no sistema solvente clorofórmio:metanol, reveladas conforme descrito em material e métodos. A solução de VBC em água funciona como um indicador de pH, acima de 5,4 adquire coloração azul e abaixo de 3,8 coloração amarela e não degrada as substâncias reveladas (Moreau & Siqueira, 2008), facilitando o uso de um segundo revelador na mesma placa. Dessa forma, foi possível a visualização dos fármacos amitriptilina, carbamazepina, clonazepam, clorfluoxetina, clorpromazina, diazepam e lorazepam. Após aplicação de VBC a mesma placa foi submetida a nebulização com a solução de DCpn, capaz de reagir com fenóis e aminas formando compostos coloridos, possibilitando a observação dos fármacos amitriptilina, carbamazepina, clorfluoxetina, clorpromazina e lorazepam. A solução de DCpn contém p-nitroanilina e nitrito de sódio que formam um sal de diazônio com grupamentos azo ( $-\text{N}^+ \equiv \text{N}$ ). Esse diazo composto reage com fenóis e aminas formando azo compostos que são as manchas coloridas visualizadas nas placas (Moreau & Siqueira, 2008).

A revelação utilizando solução de VBC em etanol (Moraes & Sznalwar, 1987; Moraes, 1988) revelou apenas os fármacos amitriptilina e clorfluoxetina, mesmo após revelação sequencial com DCpn (Tabela 2), não apresentando vantagens em relação a solução de VBC preparada em água.

A utilização do reagente DI na revelação das placas cromatográficas básicas, seguido da aplicação de  $\text{NaNO}_2$  5% de acordo com a técnica descrita por Moraes e colaboradores (1991), permite a identificação de fármacos contendo nitrogênio na estrutura, revelando 11 dos 12 fármacos estudados. Quando se pulveriza nitrito de sódio ( $\text{NaNO}_2$ ) sobre a placa recém revelada com o DI, o nitrito reduz o iodo que perde a cor marrom característica. Não houve diferença no uso de  $\text{NaNO}_2$  preparado a 1% e a 5% (Tabela 2).

Na extração de fármacos, o que determina a extração do princípio ativo, é o pH do meio e a solubilidade da substância na fase recolhida. Neste trabalho a fase recolhida foi a orgânica, portanto para que a substância seja extraída para essa fase ela teria que estar na forma molecular e não ionizada (determinado pelo pH do meio) e possuir grupos químicos que confirmam lipossolubilidade (alquílicos, fenílicos, naftílicos e outros). As substâncias que possuem maior

afinidade pela fase aquosa, hidrofílicas, têm como principais características estar na forma ionizada (determinada pelo pH do meio) e possuir grupos químicos que permitam a formação de pontes de hidrogênio com as moléculas de água em solução (grupos hidroxila (-OH), carboxila (-COOH), amino (-NH<sub>2</sub>); sulfidril (-SH) e carbonila (-C=O) (Korolkovas & Burckhalter, 1988).

Com base nestas informações é possível prever quais substâncias seriam extraídas em pH ácido e básico e com qual agente cromogênico seriam reveladas. Porém, na prática, alguns fármacos se comportaram de forma diferente do citado na literatura, como foi o caso dos fármacos estudados, clonazepam, lorazepam e carbamazepina. De acordo com a literatura, os fármacos clonazepam e lorazepam deveriam apresentar comportamento ácido e a carbamazepina deveria apresentar caráter básico. No entanto, os resultados obtidos demonstraram que todos esses fármacos possuem comportamento neutro na faixa de pH utilizada (4-5 e 9-10).

Os fármacos bromazepam e flunitrazepam foram caracterizados como apresentando caráter neutro, e clorfluoxetina, clozapina e risperidona como apresentando caráter básico.

## **CONCLUSÕES**

A frequência no atendimento em serviços de urgência e unidades de terapia intensiva de casos de intoxicação tem aumentado, principalmente devido ao uso crescente de fármacos capazes de provocar intoxicações agudas. Dentro deste contexto, as análises toxicológicas apresentam grande valor diagnóstico, e se tornam um serviço importante em todo centro hospitalar, no estabelecimento de um diagnóstico de intoxicação e orientação correta do tratamento.

Os métodos analíticos utilizados com essa finalidade devem possuir características como sensibilidade, precisão e rapidez além da capacidade para serem utilizados por laboratórios de Toxicologia, mesmo aqueles com recursos limitados.

Neste cenário a CCD é uma técnica de triagem bastante útil para a análise qualitativa de substâncias orgânicas, mostra-se eficiente permitindo a detecção de múltiplas substâncias, de baixo custo, simples e acessível a todos os laboratórios. A técnica possibilita a separação dos compostos, através da variação tanto da fase estacionária quanto da fase móvel, além da

facilidade de aplicação de diferentes agentes cromogênicos proporcionando a obtenção de dados adicionais.

Neste estudo a técnica permitiu padronizar o comportamento de fármacos selecionados em função da relevância clínica, com perfil cromatográfico não descrito na literatura e analisar os agentes cromogênicos mais adequados para revelação. A classificação dos fármacos bromazepam e flunitrazepam como apresentando caráter neutro, e cloridrato de fluoxetina, clozapina e risperidona como apresentando caráter básico poderá facilitar e tornar mais rápido o reconhecimento do fármaco eventualmente extraído de amostras biológicas.

## **REFERÊNCIAS**

Amaral DA, Hernandez EMM, Barcia SAD. Intoxicações por medicamentos. In: Oga S, organizador. Fundamentos de toxicologia. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.

Cardoso MFEC, Costa VBS, Dias MB, Andrade FA. Laboratório. In: Andrade Filho A, Campolina D, Dias MB. Toxicologia na prática clínica. 1ª ed. Belo Horizonte: Folium Comunicação Ltda, cap. 42, p.323-328, 2001.

Collins CH, Braga GL, Bonato OS. Fundamentos de cromatografia. Campinas: UNICAMP, 2006.

Degani ALG, Cass QB, Vieira PC. Cromatografia: um breve ensaio. Química Nova na Escola, n.7, maio 1998

Korolkovas A, Burckhalter JH. Química Farmacêutica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.

Linden R, Sartori S, Kellermann E, Souto AA. Identificação de substâncias em análise toxicológica sistemática utilizando um sistema informatizado para cálculo de parâmetros cromatográficos e busca em base de dados. Quím. Nova, 30: 468-475, 2007.

Margonato FB, Thomson Z; Paoliello MMB. Determinantes nas intoxicações medicamentosas agudas na zona urbana de um município do Sul do Brasil. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 24(2):333-341, 2008.

Moraes ECF, Sznelwar RB, Fernícola NAGG. *Manual de Toxicologia Analítica*. São Paulo: Roca, 1991.

Moraes ECF, Sznelwar RB. – Identificação de fármacos de caráter ácido e neutro por cromatografia em camada delgada. *Rev. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo*, 23(2):142-151, 1987.

Moraes ECF. Identificação de fármacos de caráter básico e neutro por cromatografia em camada delgada. *Rev. Soc. Bras. Toxicol.*, 1 (1):29-31, 1988.

Moreau RLM, Siqueira MEPB. *Toxicologia Analítica*. 1ª edição. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2008.

Moreira AHPR, Caldas LQA. *Intoxicações agudas: Base do diagnóstico clínico-laboratorial de urgência*. Rio de Janeiro: Revinter, 2001.

Mota DM, Melo JRR, Freitas DRC, Machado M. Perfil da mortalidade por intoxicação com medicamentos no Brasil, 1996-2005: retrato de uma década. *Ciência & Saúde Coletiva*, 17(1):61-70, 2012.

Ohweiler OA. *Química analítica quantitativa*. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, v.2, 643p, 1974.

Siqueira AJS. *Introdução à Cromatografia com Ênfase em Material Biológico*. Rio Grande do Sul: EDIPUCRS, 2003.

Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas (SINITOX). *Casos registrados de intoxicação humana e envenenamento, Brasil, 2008, uma breve análise*. Rio de Janeiro. Disponível em: <http://www.fiocruz.br./sinitox/> Acesso em: 14 de agosto de 2012.