

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

ELETRODOS VOLTAMÉTRICOS E AMPEROMÉTRICOS PARA
A DETERMINAÇÃO DE ESPÉCIES DE INTERESSE
FARMACÊUTICO

Luiz Humberto Marcolino Junior*

Tese apresentada como parte dos requisitos
para obtenção do título de DOUTOR EM
CIÊNCIAS, área de concentração: QUÍMICA
ANALÍTICA.

Orientador: Prof. Dr. Orlando Fatibello-Filho

*** bolsista CAPES**

São Carlos - SP
2007

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

M321ev

Marcolino-Junior, Luiz Humberto.

Eletrodos voltamétricos e amperométricos para a determinação de espécies de interesse farmacêutico / Luiz Humberto Marcolino Junior. -- São Carlos : UFSCar, 2007. 138 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2007.

1. Química analítica. 2. Eletrodos de pasta de carbono modificados. 3. Voltametria. 4. Amperometria I. Título.

CDD: 543 (20^a)

Dedico este trabalho à minha família, meus pais Luiz e Aparecida, meu irmão Marcos, minha eterna companheira Viviane e meus avós Francisco (in memoriam) e Cecília que sempre estiveram ao meu lado dando significado a tudo que realizei.

*De tudo, ficaram três coisas:
A certeza de que estamos sempre começando...
A certeza de que precisamos continuar...
A certeza de que seremos interrompidos antes de terminar...*

*Portanto devemos:
Fazer da interrupção um caminho novo...
Da queda um passo de dança...
Do medo, uma escada...
Do sonho, uma ponte...
Da procura, um encontro...*

Fernando Pessoa

Agradeço,

Ao Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho, meu especial agradecimento pelos ensinamentos obtidos nestes 10 anos de convivência, que me auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho e acima de tudo pela amizade paciência e incentivo.

Ao Prof. Dr. Marcos Fernando de Souza Teixeira (Função) pela amizade, companheirismo e disposição na discussão de nossos trabalhos.

Ao Prof. Dr. Edward R. Dockal pela síntese do complexo [VO-Salen].

À Viviane, que apesar das dificuldades principalmente por incompatibilidade de gêneros aprendi a amar e respeitar ao longo destes anos pelo. Agradeço também por todo amor, compreensão e paciência dedicados a mim em todos os momentos de nossas vidas.

Aos outros três vértices do quadrado mágico: Bruno, Fernando (Avaré) e Gabriel. E também aos grandes amigos que fiz durante os 10 anos de DQ-UFScar: Márcio (Ninja), Toni, Joel, Gatti, Haruo, Fernando, Fabiano, Segião entre outros que contribuíram direta ou indiretamente na realização deste projeto. E também aos companheiros do futebol nosso de cada dia: Negão (Humberto), Lemão, Salgadinho, Zampa, Marcão, Ademir e todos os outros.

Ao pessoal do LABBES: Fernandinha, Gêiser, Roberta, Heloizy, Humberto, Cyber, Fernanda, Mônica, Marina, Elen, Bruna, Grazi, Mirela, Ana Eliza, Dani, Soledad, Heberth e em especial ao Willian (Cabelo).

Ao Marcos (goleiro do PALMEIRAS) por ter defendido aquele pênalti do ARGH !!! Marcelinho Carioca. Ao Rafael Sóbis pelos dois gols contra os BAMBIS na final da

libertadores de 2006. A todos os amigos, funcionários e professores do DQ-UFSCar pelos anos de convivência. E à CAPES pelo auxílio financeiro concedido.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	xiii
LISTA DE FIGURAS.....	xiv
RESUMO.....	xx
ABSTRACT.....	xxii
CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Fármacos.....	2
1.2. Analgésicos anitpiréticos.....	2
1.2.1. Dipirona sódica.....	3
1.2.1.1. Aspectos gerais.....	4
1.2.1.2. Propriedades farmacológicas.....	5
1.2.1.2.1. Farmacocinética.....	5
1.2.1.2.2. Toxicologia.....	5
1.2.1.2.3. Farmacodinâmica.....	6
1.2.1.2.4. Efeito analgésico.....	6
1.2.1.2.5. Efeito antipirético.....	7
1.2.1.2.6. Efeito antiespasmódico.....	7
1.2.1.3. Métodos para determinação de dipirona.....	8
1.2.1.3.1. Espectrofotometria no UV – visível.....	8
1.2.1.3.2. Métodos eletroquímicos.....	10
1.2.1.3.3. Métodos fluorimétricos e quimiluminescentes.....	12
1.2.1.3.4. Cromatografia líquida de alta eficiência.....	13
1.2.2. Paracetamol.....	13
1.2.2.1. Aspectos gerais.....	14
1.2.2.2. Propriedades farmacológicas.....	15
1.2.2.2.1. Farmacocinética.....	15
1.2.2.2.2. Toxicologia.....	15
1.2.2.2.3. Farmacodinâmica.....	16
1.2.2.2.4. Efeito analgésico.....	16
1.2.2.2.5. Efeito anitpirético.....	17

1.2.2.3. Métodos para determinação de paracetamol.....	17
1.2.2.3.1. Espectrofotometria no UV – visível.....	17
1.2.2.3.2. Métodos eletroquímicos.....	18
1.2.2.3.3. Métodos fluorimétricos e quimiluminescentes.....	20
1.3. Anti-histamínicos.....	21
1.3.1. Ranitidina.....	22
1.3.1.1. Aspectos gerais.....	22
1.3.1.2. Propriedades farmacológicas.....	23
1.3.1.2.1. Farmacocinética.....	23
1.3.1.2.2. Toxicologia.....	23
1.3.1.2.3. Farmacodinâmica.....	24
1.3.1.2.4. Mecanismo de ação.....	24
1.3.1.3. Métodos para determinação de ranitidina.....	25
1.3.1.3.1. Espectrofotometria no UV – visível.....	25
1.3.1.3.2. Métodos fluorimétricos e quimiluminescentes.....	26
1.3.1.3.3. Métodos eletroquímicos.....	27
1.4. Anti-hipertensivos vasodilatadores.....	28
1.4.1. Captopril.....	29
1.4.1.1. Aspectos gerais.....	29
1.4.1.2. Propriedades farmacológicas.....	29
1.4.1.2.1. Farmacocinética.....	30
1.4.1.2.2. Toxicologia.....	30
1.4.1.2.3. Farmacodinâmica.....	30
1.4.1.2.4. Mecanismo de ação.....	31
1.4.1.3. Métodos para determinação de captopril.....	31
1.4.1.3.1. Espectrofotometria no UV – visível.....	32
1.4.1.3.2. Métodos fluorimétricos e quimiluminescentes.....	32
1.4.1.3.3. Métodos eletroquímicos.....	33
1.5. Objetivos.....	35
CAPÍTULO 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	37

2.1. Eletrodos quimicamente modificados.....	37
2.1.1. Métodos de modificação da superfície do eletrodo.....	37
2.1.1.1. Adsorção.....	38
2.1.1.2. Ligação covalente.....	38
2.1.1.3. Recobrimento com membranas poliméricas.....	39
2.1.1.4. Materiais compósitos.....	39
2.1.2. Aplicações e funções básicas de um eletrodo modificado.....	39
2.1.2.1. Acumulação.....	39
2.1.2.2. Transformação química.....	40
2.1.2.3. Eletrocatalise.....	40
2.1.3. Eletrodo de pasta de carbono (EPC)	41
2.1.3.1. Aspectos históricos.....	42
2.2. Complexos metálicos com bases de schiff.....	44
2.3. Hexacianoferratos.....	45
2.4. Resinas de troca iônica.....	47
2.5. Técnicas eletroquímicas.....	49
2.5.1. Voltametria cíclica.....	49
2.6. Análise por injeção em fluxo (FIA)	51
2.6.1. Princípios fundamentais.....	51
CAPÍTULO 3. PARTE EXPERIMENTAL	55
3.1. Instrumentação básica.....	55
3.1.1. Balança analítica.....	55
3.1.2. pHmetro.....	55
3.1.3. Eletrodo de vidro combinado.....	55
3.1.4. Medidas voltamétricas e amperométricas.....	55
3.2. Construção de um EPCM com [VO-Salen] para a determinação de dipirona em formulações farmacêuticas.....	56
3.2.1. Reagentes e soluções.....	56
3.2.1.1. Soluções estoque.....	56
3.2.1.2. Síntese do [VO-Salen]	56

3.2.1.3. Construção do eletrodo de trabalho.....	57
3.2.1.4. Preparo e análise das amostras.....	57
3.2.1.5. Método de referência.....	58
3.3. Construção de um EPCM com [VO-Salen] para a determinação de ranitidina em formulações farmacêuticas.....	59
3.3.1. Reagentes e soluções.....	59
3.3.1.1. Soluções estoque.....	59
3.3.1.2. Síntese do [VO-Salen]	59
3.3.1.2. Construção do eletrodo de trabalho.....	59
3.3.1.4. Preparo e análise das amostras.....	60
3.3.1.5. Método de referência.....	60
3.4. Construção de um EPCM com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$ para a determinação de dipirona em formulações farmacêuticas.....	60
3.4.1. Reagentes e soluções.....	60
3.4.1.1. Soluções estoque.....	61
3.4.1.2. Síntese do $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$	61
3.4.1.2. Construção do eletrodo de trabalho.....	61
3.4.1.4. Preparo e análise das amostras.....	49
3.4.1.5. Método de referência.....	49
3.5. Construção de um EPCM com $\text{R}[-\phi-\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3]_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ para a determinação de paracetamol em formulações farmacêuticas.....	62
3.5.1. Reagentes e soluções.....	62
3.5.1.1. Soluções estoque.....	62
3.5.1.2. Obtenção da $\text{R}[-\phi-\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3]_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$	62
3.5.1.2. Construção do eletrodo de trabalho.....	63
3.5.1.4. Preparo e análise das amostras.....	63
3.5.1.5. Método de referência.....	64
3.6. Determinação amperométrica de captopril em sistema FIA utilizando um eletrodo de pasta de carbono (EPC)	64
3.6.1. Instrumentação básica.....	64
3.6.1.1. Bomba peristáltica.....	64

3.6.1.2. Tubos e conexões.....	64
3.6.1.3. Injetor comutador.....	64
3.6.1.4. Registrador.....	65
3.6.1.5. Medidas voltamétricas.....	65
3.6.2. Reagentes e soluções.....	66
3.6.2.1. Soluções estoque.....	66
3.6.2.2. Construção do eletrodo de trabalho.....	66
3.6.2.3. Preparo e análise das amostras.....	66
3.6.2.4. Método de referência.....	67
CAPÍTULO 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	69
4.1. Construção de um EPCM com [VO-Salen] para a determinação de dipirona em formulações farmacêuticas.....	69
4.1.1. Comportamento da dipirona em voltametria cíclica utilizando um EPC não modificado.....	69
4.1.2. Propriedades eletroquímicas do EPC modificado com [VO-Salen].....	71
4.1.3. Comportamento eletroquímico do EPCM com [VO-Salen] em presença de dipirona utilizando voltametria cíclica.....	73
4.1.4. Efeito da velocidade de varredura.....	75
4.1.5. Efeito do pH.....	76
4.1.5. Estudo de interferentes em potencial e teste de recuperação.....	77
4.1.6. Curva analítica e aplicações.....	79
4.2. Construção de um EPCM com [VO-Salen] para a determinação de ranitidina em formulações farmacêuticas.....	81
4.2.1. Comportamento da ranitidina em voltametria cíclica utilizando um EPC não modificado.....	81
4.2.2. Propriedades eletroquímicas do EPC modificado com [VO-Salen].....	82
4.2.3. Comportamento eletroquímico do EPCM com [VO-Salen] em presença de ranitidina utilizando voltametria de varredura linear.....	83
4.2.4. Efeito da velocidade de varredura.....	84
4.2.5. Efeito do pH.....	86

4.2.6. Estudo de interferentes em potencial e teste de recuperação.....	87
4.2.7. Curva analítica e aplicações.....	88
4.3. Construção de um EPCM com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$ para a determinação de dipirona em formulações farmacêuticas.....	90
4.3.1. Comportamento da dipirona em voltametria cíclica utilizando um EPC não modificado.....	90
4.3.2. Propriedades eletroquímicas do EPC modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$	90
4.3.3. Comportamento eletroquímico do EPCM com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$ em presença de dipirona utilizando voltametria cíclica.....	92
5.3.4. Efeito da composição da pasta de carbono modificada.....	94
4.3.5. Efeito do pH.....	95
4.3.6. Efeito da velocidade de varredura de potenciais.....	96
4.3.7. Estudo de interferentes em potencial.....	97
4.3.8. Curva analítica e aplicação.....	97
4.4. Construção de um EPCM com $\text{RTI}-[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ para a determinação amperométrica de paracetamol.....	100
4.4.1. Comportamento do paracetamol por voltametria cíclica utilizando um EPC não modificado.....	100
4.4.2. Propriedades eletroquímicas do EPC modificado com $\text{R}-[-\phi-\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3]_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$	101
4.4.3. Comportamento do EPCM em presença de paracetamol.....	102
4.4.4. Estudos preliminares.....	104
4.4.5. Curva analítica e aplicação.....	104
4.5. Determinação amperométrica de captopril utilizando um eletrodo de pasta de carbono (EPC) em sistema FIA.....	107
4.5.1. Comportamento eletroquímico do captopril utilizando o EPC e voltametria cíclica.....	107
4.5.2. Efeito do pH.....	108
4.5.3. Efeito dos parâmetros do sistema FIA.....	110
4.5.4. Estudo de interferentes em potencial e teste de recuperação.....	111
4.5.5. Curva analítica e aplicações.....	111

CAPÍTULO 5. CONCLUSÕES.....	114
CAPÍTULO 6. ATIVIDADES FUTURAS.....	117
CAPÍTULO 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	119

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1. Solubilidade em água dos principais analgésicos antipiréticos.....	3
TABELA 1.2. Farmacocinética dos principais analgésicos antipiréticos.....	5
TABELA 1.3. Perfil comparativo da dipirona com outros analgésicos antipiréticos...	6
TABELA 4.1. Resultados do teste de recuperação de dipirona adicionada a formulações farmacêuticas empregando o EPCM proposto.....	78
TABELA 4.2. Determinação de dipirona em produtos farmacêuticos empregando-se o EPCM proposto e o método iodimétrico.....	80
TABELA 4.3. Determinação de ranitidina em produtos farmacêuticos empregando-se o EPCM proposto e o método oficial.....	89
TABELA 4.4. Determinação de dipirona em produtos farmacêuticos empregando-se o procedimento proposto e o método iodimétrico.....	99
TABELA 4.5. Determinação de paracetamol em produtos farmacêuticos empregando-se o EPCM proposto e o método espectrofotométrico.....	106
TABELA 4.6. Determinação de captopril em produtos farmacêuticos empregando-se o sistema proposto e o método iodimétrico.....	113
TABELA 5.1. Sinopse dos resultados obtidos pelos procedimentos propostos.....	116

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1. Estrutura molecular de alguns derivados pirazolônicos.....	4
FIGURA 1.2. Estrutura molecular de alguns derivados do <i>p</i> -aminofenol.....	14
FIGURA 1.3. Estrutura molecular da histamina.....	22
FIGURA 1.4. Estrutura molecular da ranitidina.....	22
FIGURA 1.5. Estrutura molecular do captopril.....	29
FIGURA 2.1. Representação de modificação covalente sobre eletrodo metálico ou de grafite.....	38
FIGURA 2.2. Esquema do princípio de ação do modificador na superfície de um eletrodo para acumulação.....	40
FIGURA 2.3. Esquema do mecanismo de ação do modificador na superfície de um eletrodo para transformação química.....	40
FIGURA 2.4. Representação esquemática do mecanismo de ação do modificador na superfície de um eletrodo com função eletrocatalítica.....	41
FIGURA 2.5. Estrutura cristalina do hexacianoferrato (III) de cobre (II) em solução contendo íons sódio.....	46
FIGURA 2.6. Esquema da síntese de obtenção de resinas de troca iônica.....	48
FIGURA 2.7. Esquema da aplicação do potencial vs. tempo para voltametria cíclica.....	50

- FIGURA 2.8. Representação esquemática de um sistema FIA simples de linha única. Onde: **T** é a solução transportadora; **1**, unidade de propulsão; **2**, unidade de comutação; **3**, unidade de reação; **4**, unidade de detecção e **D**, descarte..... 52
- FIGURA 3.1. Representação esquemática de uma célula eletroquímica usada nas medidas voltamétricas. **ER** – eletrodo de referência (Ag/AgCl); **ET** – eletrodo de trabalho (EPCM); **CE** – contra-eletrodo (Pt)..... 56
- FIGURA 3.2. Diagrama esquemático da célula eletroquímica usada nas medidas amperométricas em fluxo. **A**: 1 – bloco de resina poliuretana; 2 – eletrodo de referência (Ag/AgCl); 3 – eletrodo de platina; 4 – eletrodo de pasta de carbono; 5 – tubo de polietileno (fluxo). **B**: eletrodo de pasta de carbono utilizado na célula..... 65
- FIGURA 4.1. Voltamograma cíclico para dipirona $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de acetato de sódio (pH = 7,3) utilizando um eletrodo de pasta de carbono (EPC). Velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} ; intervalo de potencial de 0,0 a 1,3 V..... 69
- FIGURA 4.2. Efeito da raiz quadrada da velocidade de varredura no processo difusional das espécies na superfície do eletrodo referente ao primeiro processo de oxidação ($E_{pa} = 330 \text{ mV}$). Solução de dipirona $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em acetato de sódio $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7,3)..... 70
- FIGURA 4.3. Voltamogramas cíclicos de dipirona $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em acetato de sódio em diferentes pHs utilizando um EPC. Velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} . 71
- FIGURA 4.4. Comportamento eletroquímico do EPC modificado com [VO-Salen] em meio de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ 72
- FIGURA 4.5. Voltamogramas cíclicos para a eletroxidação de dipirona empregando o EPCM com [VO-Salen] em uma solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 5,5) na ausência (1) e presença (2) de dipirona $9,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ 73

FIGURA 4.6. Mecanismo proposto para o funcionamento do EPCM-[VO-Salen] para a determinação de dipirona.....	74
FIGURA 4.7. Reação de oxidação da dipirona.....	75
FIGURA 4.8. Variação da resposta voltamétrica do EPCM com [VO-Salen] com a velocidade de varredura na presença de $9,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de dipirona em meio de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$	75
FIGURA 4.9. Efeito do pH sobre a resposta voltamétrica do EPCM com [VO-Salen] na presença de $9,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de dipirona em meio de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$	76
FIGURA 4.10. Representação das espécies de dipirona em função do pH (Equação não balanceada).....	77
FIGURA 4.11. Voltamogramas lineares obtidos para o EPCM com [VO-Salen] na presença de diferentes concentrações de dipirona em meio de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, a 25 mV s^{-1} . Em detalhe está ilustrada a curva analítica obtida pelas correntes de pico anódico em função da concentração de dipirona.....	79
FIGURA 4.12. Voltamogramas obtidos para um EPC não modificado em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,5) e velocidade de 25 mV s^{-1} na ausência (1) e presença (2) de ranitidina $9,1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	81
FIGURA 4.13. Voltamograma cíclico obtido para o EPCM com 20% (m/m) do complexo VO-Salen em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5,5.....	82
FIGURA 4.14. Voltamograma obtido para o EPCM com 20% (m/m) do complexo VO-Salen em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,5) e velocidade 25 mV s^{-1} na ausência (1) e na presença (2) de ranitidina.....	83

FIGURA 4.15. Mecanismo proposto para o funcionamento do EPCM-[VO-Salen] para a determinação de ranitidina.....	84
FIGURA 4.16. Variação da resposta voltamétrica do EPCM com [VO-Salen] com a velocidade de varredura na presença de $9,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de ranitidina em meio de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$	85
FIGURA 4.17. Dependência da raiz quadrada da velocidade varredura para o EPCM com [VO-Salen] na presença de $9,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de ranitidina em meio de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$	85
FIGURA 4.18. Variação da resposta voltamétrica do EPCM com [VO-Salen] em função do pH na presença de $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de ranitidina em meio de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$	87
FIGURA 4.19. Voltamogramas lineares obtidos para o EPCM com [VO-Salen] na presença de diferentes concentrações de ranitidina em meio de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, a 25 mV s^{-1} . Em detalhe está ilustrada a curva analítica obtida pelas correntes de pico anódico em função da concentração de ranitidina.....	88
FIGURA 4.20. Comportamento eletroquímico do EPCM com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$	90
FIGURA 4.21. Efeito do contra-íon contido no eletrólito suporte. Concentração do cátion metálico de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$	91
FIGURA 4.22. Comportamento eletroquímico do EPCM com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$. Em (1) é representado o EPC na presença de dipirona $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Em (2) e (3) estão representados, respectivamente, o EPCM na ausência e presença de dipirona $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	93
FIGURA 4.23. Mecanismo proposto para a resposta voltamétrica do eletrodo modificado (EPCM).....	93

FIGURA 4.24. Estudo da composição da pasta de carbono sobre a resposta voltamétrica em uma solução tampão acetato 0,2 mol L ⁻¹ (pH 4,8); $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$	94
FIGURA 4.25. Influência do pH na resposta voltamétrica do eletrodo de pasta de carbono modificado com 20% (m/m) de Cu ₃ [Fe(CN) ₆] ₂ em solução tampão acetato 0,2 mol L ⁻¹	95
FIGURA 4.26. Efeito da raiz quadrada da velocidade de varredura no processo difusional das espécies referentes ao processo de oxidação da dipirona $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ na superfície do eletrodo em solução tampão acetato 0,20 mol L ⁻¹ pH 7,4...	96
FIGURA 4.27. Curva analítica obtida para dipirona empregando-se um EPCM com hexacianoferrato(III) de cobre(II) em solução tampão acetato 0,20 mol L ⁻¹ (pH 7,4).	98
FIGURA 4.28. Representação das etapas de oxidação do paracetamol.....	100
FIGURA 4.29. Voltamogramas obtidos para o EPC na ausência (A) e na presença (B) de paracetamol $9,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de HClO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ , $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.	101
FIGURA 4.30. Voltamogramas cíclicos obtido para o EPCM com 20% (m/m) da RTI-[Fe(CN) ₆] ³⁻ em solução de HClO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ , $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$	102
FIGURA 4.31. Voltamogramas obtidos para o EPCM com 20% (m/m) da RTI-[Fe(CN) ₆] ³⁻ em solução de HClO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ e $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ na ausência (A) e na presença (B) de paracetamol $9,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	103
FIGURA 4.32. Mecanismo proposto para a determinação de paracetamol utilizando o EPCM com Fe(CN) ₆ ³⁻	103
FIGURA 4.33. Curva analítica para a determinação de paracetamol utilizando o EPCM com Fe(CN) ₆ ³⁻	105

- FIGURA 4.34. Voltamograma cíclico em solução de tampão acetato (pH = 3,6) utilizando um eletrodo de pasta de carbono (EPC) na ausência (A) e na presença (B) de uma solução $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de captopril. Velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} ; intervalo de potencial de -0,20 a 1,0 V..... 107
- FIGURA 4.35. Representação das reações de oxidação do captopril utilizando o EPC..... 108
- FIGURA 4.36. Efeito do pH na oxidação do captopril utilizando o EPC. Demais condições experimentais descritas na FIGURA 4.34..... 109
- FIGURA 4.37. Representação da distribuição das espécies de captopril em função do pH da solução..... 109
- FIGURA 4.38. Efeito do potencial aplicado para a determinação de captopril em um sistema FIA utilizando o EPC..... 110
- FIGURA 4.39. Sinais transientes obtidos na determinação de captopril em produtos farmacêuticos utilizando um sistema FIA com detecção amperométrica. Da esquerda para a direita, os sinais correspondem a triplicatas das soluções de referência de captopril em ordem crescente de concentração. Em destaque, é mostrada a dependência da concentração de captopril com a corrente..... 112

RESUMO

ELETRODOS VOLTAMÉTRICOS E AMPEROMÉTRICOS PARA A DETERMINAÇÃO DE ESPÉCIES DE INTERESSE FARMACÊUTICO. O desenvolvimento de eletrodos modificados com hexacianoferratos insolúveis vem atraindo grande atenção devido às suas interessantes características químicas e eletroquímicas. No primeiro trabalho desenvolvido, utilizou-se 20% (m/m) de hexacianoferrato de cobre(II) incorporado à pasta de carbono para a determinação voltamétrica de dipirona. A curva analítica apresentou uma linearidade no intervalo de concentração entre $9,9 \times 10^{-6}$ e $2,4 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ com um limite de detecção de $8,1 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ em solução de acetato de sódio pH 7,3. Em um segundo trabalho, utilizou-se uma resina de troca aniônica, que foi carregada com íons hexacianoferrato(III) e este material foi utilizado como modificador em um EPCM que posteriormente foi aplicado na determinação amperométrica de paracetamol. A curva analítica foi linear no intervalo de concentração de paracetamol entre $2,0 \times 10^{-5}$ e $6,5 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ com limite de detecção de $1,6 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. O uso de complexos de vanádio também vem sendo bastante intensificado nos últimos anos, principalmente por se tratar de um elemento que participa de diversos processos bioquímicos no corpo humano. Neste trabalho, outros dois métodos foram propostos utilizando um EPCM com o complexo VO-Salen para a determinação voltamétrica de dipirona e ranitidina em produtos farmacêuticos. Diversos parâmetros foram estudados a fim de se obter a melhor resposta do sensor. As curvas analíticas foram lineares para dipirona e ranitidina nos intervalos de concentração de $9,0 \times 10^{-6}$ a $2,8 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e $9,9 \times 10^{-5}$ a $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, respectivamente, com um limite de detecção de $7,2 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ para dipirona e $6,6 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ para ranitidina. Finalmente, o uso de eletrodos de pasta de carbono, modificados ou não, acoplados em sistema FIA com detecção amperométrica também vem sendo amplamente explorado por se tratar de uma alternativa extremamente versátil. Neste trabalho, desenvolveu-se um procedimento para a quantificação de captopril em formulações farmacêuticas utilizando uma célula amperométrica de fluxo acoplada ao sistema. O método foi

baseado na reação de oxidação do captopril, sob ação de um potencial aplicado. Parâmetros como pH e eletrólito suporte, além dos parâmetros do sistema FIA foram avaliados a fim de se obter as melhores respostas analíticas. A curva analítica foi linear no intervalo de concentração de captopril de $2,0 \times 10^{-4}$ a $7,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $9,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e frequência de amostragem de 42 h^{-1} .

ABSTRACT

VOLTAMMETRIC AND AMPEROMETRIC ELECTRODES FOR THE DETERMINATION OF SPECIES WITH PHARMACEUTICAL INTEREST. The development of modified electrodes by insoluble metal hexacyanoferrates have attracted wide spread attention due to their interesting chemical and electrochemical characteristics. In the first developed work, 20% (m/m) of copper(II) hexacyanoferrate was incorporated to a carbon paste for the voltammetric determination of dipyrone. The analytical curve showed a linear response in the concentration range of 9.9×10^{-6} to 2.4×10^{-4} mol L⁻¹ with a detection limit of 8.1×10^{-6} mol L⁻¹ in acetate buffer solution at pH 7.3. In a second work, an anionic exchange resin modified with hexacyanoferrate(III) ions was used as modifier material in an MCPE that later was applied in the amperometric determination of paracetamol. The analytical curve was linear in the paracetamol concentration range of 2.0×10^{-5} and 6.5×10^{-4} mol L⁻¹ with a detection limit of 1.6×10^{-5} mol L⁻¹. The use of vanadium complexes has been also intensified in the last years, mainly for its importance in diverse biochemist processes in the human body. In this work, two other methods had been proposed employing an EPCM with VO-Salen complex for the voltammetric determination of dipyrone and ranitidine in pharmaceutical products. The analytical curves for dipyrone and ranitidine were linear in the concentration ranges of 9.0×10^{-6} to 2.8×10^{-4} mol L⁻¹ and 9.9×10^{-5} to 1.0×10^{-3} mol L⁻¹, respectively, with a detection limit of 7.2×10^{-6} mol L⁻¹ for dipyrone and 6.6×10^{-5} mol L⁻¹ for ranitidine. Finally, the use of carbon paste electrodes, modified or not, coupled to the FIA system with amperometric detection has been also widely explored due to be an extremely versatile alternative. In this work, a procedure for the captopril quantification in pharmaceutical formulations was developed using an amperometric flow cell connected to the FIA system. The method was based on the reaction of the captopril oxidation, under action of an applied electric potential. Parameters such as pH and support electrolyte, and the FIA system parameters had been evaluated in order to get the best results. The analytical curve was linear in the captopril

concentration range from 2.0×10^{-4} to 7.5×10^{-3} mol L⁻¹, with a detection limit of 9.6×10^{-5} mol L⁻¹ and a sampling frequency of 42 h⁻¹.

RESUMO

ELETRODOS VOLTAMÉTRICOS E AMPEROMÉTRICOS PARA A DETERMINAÇÃO DE ESPÉCIES DE INTERESSE FARMACÊUTICO. O desenvolvimento de eletrodos modificados com hexacianoferratos insolúveis vem atraindo grande atenção devido às suas interessantes características químicas e eletroquímicas. No primeiro trabalho desenvolvido, utilizou-se 20% (m/m) de hexacianoferrato de cobre(II) incorporado à pasta de carbono para a determinação voltamétrica de dipirona. A curva analítica apresentou uma linearidade no intervalo de concentração entre $9,9 \times 10^{-6}$ e $2,4 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ com um limite de detecção de $8,1 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ em solução de acetato de sódio pH 7,3. Em um segundo trabalho, utilizou-se uma resina de troca aniônica, que foi carregada com íons hexacianoferrato(III) e este material foi utilizado como modificador em um EPCM que posteriormente foi aplicado na determinação amperométrica de paracetamol. A curva analítica foi linear no intervalo de concentração de paracetamol entre $2,0 \times 10^{-5}$ e $6,5 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ com limite de detecção de $1,6 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. O uso de complexos de vanádio também vem sendo bastante intensificado nos últimos anos, principalmente por se tratar de um elemento que participa de diversos processos bioquímicos no corpo humano. Neste trabalho, outros dois métodos foram propostos utilizando um EPCM com o complexo VO-Salen para a determinação voltamétrica de dipirona e ranitidina em produtos farmacêuticos. Diversos parâmetros foram estudados a fim de se obter a melhor resposta do sensor. As curvas analíticas foram lineares para dipirona e ranitidina nos intervalos de concentração de $9,0 \times 10^{-6}$ a $2,8 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e $9,9 \times 10^{-5}$ a $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, respectivamente, com um limite de detecção de $7,2 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ para dipirona e $6,6 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ para ranitidina. Finalmente, o uso de eletrodos de pasta de carbono, modificados ou não, acoplados em sistema FIA com detecção amperométrica também vem sendo amplamente explorado por se tratar de uma alternativa extremamente versátil. Neste trabalho, desenvolveu-se um procedimento para a quantificação de captopril em formulações farmacêuticas utilizando uma célula amperométrica de fluxo acoplada ao sistema. O método foi

baseado na reação de oxidação do captopril, sob ação de um potencial aplicado. Parâmetros como pH e eletrólito suporte, além dos parâmetros do sistema FIA foram avaliados a fim de se obter as melhores respostas analíticas. A curva analítica foi linear no intervalo de concentração de captopril de $2,0 \times 10^{-4}$ a $7,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $9,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e frequência de amostragem de 42 h^{-1} .

ABSTRACT

VOLTAMMETRIC AND AMPEROMETRIC ELECTRODES FOR THE DETERMINATION OF SPECIES WITH PHARMACEUTICAL INTEREST. The development of modified electrodes by insoluble metal hexacyanoferrates have attracted wide spread attention due to their interesting chemical and electrochemical characteristics. In the first developed work, 20% (m/m) of copper(II) hexacyanoferrate was incorporated to a carbon paste for the voltammetric determination of dipyrone. The analytical curve showed a linear response in the concentration range of 9.9×10^{-6} to 2.4×10^{-4} mol L⁻¹ with a detection limit of 8.1×10^{-6} mol L⁻¹ in acetate buffer solution at pH 7.3. In a second work, an anionic exchange resin modified with hexacyanoferrate(III) ions was used as modifier material in an MCPE that later was applied in the amperometric determination of paracetamol. The analytical curve was linear in the paracetamol concentration range of 2.0×10^{-5} and 6.5×10^{-4} mol L⁻¹ with a detection limit of 1.6×10^{-5} mol L⁻¹. The use of vanadium complexes has been also intensified in the last years, mainly for its importance in diverse biochemist processes in the human body. In this work, two other methods had been proposed employing an EPCM with VO-Salen complex for the voltammetric determination of dipyrone and ranitidine in pharmaceutical products. The analytical curves for dipyrone and ranitidine were linear in the concentration ranges of 9.0×10^{-6} to 2.8×10^{-4} mol L⁻¹ and 9.9×10^{-5} to 1.0×10^{-3} mol L⁻¹, respectively, with a detection limit of 7.2×10^{-6} mol L⁻¹ for dipyrone and 6.6×10^{-5} mol L⁻¹ for ranitidine. Finally, the use of carbon paste electrodes, modified or not, coupled to the FIA system with amperometric detection has been also widely explored due to be an extremely versatile alternative. In this work, a procedure for the captopril quantification in pharmaceutical formulations was developed using an amperometric flow cell connected to the FIA system. The method was based on the reaction of the captopril oxidation, under action of an applied electric potential. Parameters such as pH and support electrolyte, and the FIA system parameters had been evaluated in order to get the best results. The analytical curve was linear in the captopril

concentration range from 2.0×10^{-4} to 7.5×10^{-3} mol L⁻¹, with a detection limit of 9.6×10^{-5} mol L⁻¹ and a sampling frequency of 42 h⁻¹.

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

1.1. Fármacos

Fármacos são geralmente compostos altamente funcionalizados e a maioria deles exibem grupos oxidáveis, o que os tornam alvos ideais para um metabolismo oxidativo quando são introduzidos no organismo humano¹.

A ação biológica de um fármaco pode variar drasticamente conforme a sua estrutura. Assim, um xenobiótico, que após absorção tenha sido metabolizado, pode simplesmente deixar de apresentar qualquer efeito toxicológico, ou passar a produzir um efeito diferente daquele esperado e desejado. Em alguns casos, no entanto, é justamente o xenobiótico metabolizado que apresenta o efeito biológico desejado. Neste caso, o fármaco é conhecido como pró-fármaco².

Devido à importância dos fármacos em geral no metabolismo humano, sempre houve um grande interesse no estudo destes compostos, bem como na determinação analítica de seus teores em produtos comerciais.

Com o advento dos medicamentos genéricos e o crescimento, de certa forma descontrolado, no número de pequenos laboratórios farmacêuticos, que muitas vezes funcionam em local desapropriado, busca-se cada vez mais desenvolver novos métodos que sejam sensíveis, precisos e de fácil acesso para este tipo de análise.

Na literatura são relatados vários métodos para a determinação de fármacos, como os microbiológicos, bioanalíticos e químicos, sendo que boa parte destes métodos é de alto custo, possuem baixa sensibilidade e longo tempo de análise.

1.2. Analgésicos antipiréticos^{3,4}

Analgésicos são fármacos que, mediante ação sobre o sistema nervoso central, aliviam a dor sem causar entorpecimento ou perda de consciência. A palavra *analgesia* provém do grego *an* (sem) e *gesia* (dor).

Antipiréticos ou antitérmicos são fármacos que eliminam ou aliviam os estados febris. A temperatura corporal é controlada por um mecanismo regulador

situado no hipotálamo, que controla a produção e a perda de calor. O hipotálamo é, por assim dizer, o “termostato” do organismo. Ao sobrevir a febre, eleva-se o nível do “termostato”, embora persista o equilíbrio entre a produção e a perda de calor. Os antipiréticos produzem abaixamento da temperatura corporal elevada em consequência do aumento da perda de calor. Sua ação não é específica, não estando relacionada com o aumento da causa da pirose.

O grupo dos analgésicos antipiréticos clássicos compõe-se fundamentalmente de três substâncias básicas: o ácido acetilsalicílico (AAS), o paracetamol e a dipirona (Tabela 1.1). Trata-se de fármacos antigos, com várias décadas de intenso emprego terapêutico. Entre estas substâncias, a de maior uso em grande número de países, inclusive o Brasil, é a dipirona, graças ao seu elevado índice de confiabilidade terapêutica no combate à dor e à febre a par de sua boa tolerabilidade geral.

TABELA 1.1. Solubilidade em água dos principais analgésicos antipiréticos

Analgésico	Solubilidade / (g / g H₂O)	Característica
Dipirona Sódica	1 / 1,5	Altamente solúvel
Paracetamol	1 / 70	Moderadamente solúvel
Ácido Acetilsalicílico	1 / 300	Pouco solúvel

Em uma avaliação epidemiológica dos efeitos colaterais dos analgésicos antipiréticos, Levi⁵ lembra que o AAS, o paracetamol e a dipirona não foram submetidos a ensaios clínicos iniciais. Deste modo, apenas com o uso clínico intenso durante períodos prolongados obteve-se maiores informações sobre o perfil de tolerabilidade destas drogas. Assim, da mesma forma que o AAS vem sendo relacionado principalmente à ocorrência de hemorragias gastrintestinais e o paracetamol à toxicidade hepática, a dipirona foi apontada durante muito tempo como sendo responsável por discrasias sangüíneas, sobretudo agranulocitose.

1.2.1. Dipirona sódica

1.2.1.1. Aspectos gerais⁶

No Século XIX, os médicos mostraram a sua grande preocupação com a analgesia e a anestesia, concentrando nesta direção os seus esforços de pesquisa terapêutica. Assim, dentre as várias moléculas dotadas de propriedades analgésicas, surgiu na Alemanha a família das pirazolonas, como a antipirina, sintetizada em 1884. Anos mais tarde, em 1897 surgia outro parente, a aminopirina. Posteriormente, em 1913, a Hoechst AG desenvolvia o primeiro composto injetável da família, a dipirona. Em 1921, era introduzida no mercado farmacêutico alemão, a primeira pirazolona de uso clínico, que era, em realidade, um produto composto por 50 % de dipirona e 50 % de aminopirina. A indicação terapêutica era analgésico e antiespasmódico, apesar de ter sido testado até para o tratamento da tuberculose. No Brasil, a dipirona foi introduzida em 1922, pela Hoechst AG, com o nome de Novalgina.

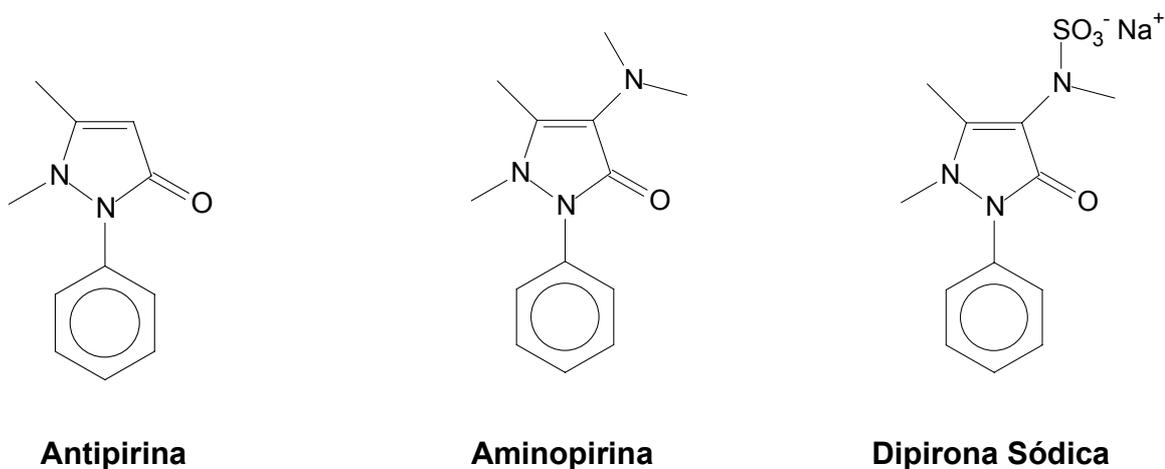


FIGURA 1.1. Estrutura molecular de alguns derivados pirazolônicos.

A dipirona (sal de sódio do 1-fenil-2,3-dimetil-4-metilaminometanossulfonato-5-pirazolona) é, em verdade, o principal analgésico e antipirético da terapêutica brasileira, com 31,8 % do mercado, sendo o paracetamol com 29,7%, em segundo, e a aspirina, com 27,1 %, em terceiro. É um pó cristalino de coloração branca solúvel em água e álcool, ligeiramente solúvel em clorofórmio e praticamente insolúvel em éter. Quimicamente, a dipirona é um derivado 5-pirazolônico

com a presença de um grupo metanossulfônico na estrutura. Existem, no país cerca de 125 produtos a base de dipirona, sendo 71 em associação a outras substâncias. É comercializada principalmente na forma sódica em diferentes formas farmacêuticas (solução oral, injetável, comprimidos e supositórios). Mais de 80 % das vendas ocorrem sem prescrição médica.

1.2.1.2. Propriedades farmacológicas

1.2.1.2.1. Farmacocinética⁷

A dipirona sódica é um medicamento com propriedades analgésicas e antipiréticas indicado no tratamento sintomático da dor e febre, age simultaneamente a nível central e periférico, sua absorção é rápida, uniforme e quase completa. Cerca de 58 % da dose liga-se às proteínas plasmáticas, proporcionando o efeito do fármaco em aproximadamente 15 minutos após a administração do medicamento. A biotransformação da droga ocorre a nível hepático, com duração do efeito de aproximadamente 4 a 7 horas. A eliminação da droga ocorre a nível renal sendo cerca de 70 % de uma dose excretada pela urina após 24 horas da ingestão. A TABELA 1.2 apresenta as principais características dos três principais analgésicos antipiréticos.

TABELA 1.2. Farmacocinética dos principais analgésicos antipiréticos

Substância	Absorção gastrointestinal	Biodisponibilidade	Meia-vida plasmática
Dipirona	Muito rápida	> 90 %	De 4 a 7 h
Paracetamol	Rápida, menos uniforme	Variável, até 90 %	De 1 a 4 h
AAS	Rápida e uniforme	Cerca de 30 %	Cerca de 3 h

1.2.1.2.2. Toxicologia⁸

A dose recomendada de dipirona a um adulto é de 0,5 a 1,0 g administrada três vezes ao dia e, a ingestão de 5,0 g deste fármaco pode ser letal. Geralmente o medicamento é bem tolerado, mas podem ocorrer reações adversas, tais

como: hipotermia e reações de hipersensibilidade que afetam a pele, a conjuntiva e a mucosa nasofaríngea, muito raramente progredindo para reações cutâneas bolhosas, às vezes com risco de vida, geralmente com comprometimento da mucosa (síndrome de Stevens-Johnson ou síndrome de Lyell). O medicamento pode provocar reações ocasionais ou raras, como: distúrbios renais transitórios com oligúria e anúria, acompanhada de proteinúria e inflamação do tecido renal (nefrite intersticial), principalmente em pacientes com histórico de doença renal ou em casos de overdose. Existem relatos de discrasias sangüíneas como agranulocitose, leucopenia e trombocitopenia, com risco de vida.

1.2.1.2.3. Farmacodinâmica⁹

Os analgésicos antipiréticos são substâncias utilizadas predominantemente para o alívio da dor e da febre. Entretanto, a sua indicação específica depende de algumas de suas características farmacodinâmicas próprias, quer quanto ao espectro e à intensidade de ação, quer quanto à tolerabilidade. A Tabela 1.3 apresenta um perfil comparativo da dipirona com outras drogas.

TABELA 1.3. Perfil comparativo da dipirona com outros analgésicos antipiréticos.

Substância	Efeitos			
	Analgésico	Antipirético	Antinflamatório	Colaterais
Dipirona	Intenso	Intenso	Moderado	Leve
AAS	Moderado	Moderado	Intenso	Moderado
Paracetamol	Moderado	Moderado	Leve	Leve

A dipirona é o único deste grupo de fármacos que, como efeito adicional, ainda exerce atividade antiespasmódica, de grande valia no tratamento das dores espásticas.

1.2.1.2.4. Efeito analgésico

O mecanismo de ação dos analgésicos não narcóticos está basicamente ligado a uma inibição em nível periférico da síntese das prostaglandinas, impedindo com isso a sensibilização dos nociceptores. Entretanto, no caso da dipirona, sua ação é demonstrável também no bloqueio da percepção dolorosa no tálamo. Além do mais, a ação da dipirona sobre as prostaglandinas é qualitativamente diferente daquela do AAS, o que explica a sua melhor tolerabilidade gastrointestinal^{10,11}. A dipirona é também eficaz nas dores provenientes de espasmos da musculatura lisa das vísceras ocas.

1.2.1.2.5. Efeito antipirético

Os analgésicos antipiréticos constituem recurso terapêutico indispensável no combate à febre. Na grande maioria dos casos a febre ocorre na vigência de quadros infecciosos, sobretudo na pediatria. Como é sabido, febre elevada e prolongada pode causar danos neurológicos irreversíveis e até levar à morte. Nos estados febris, a atividade antipirética da dipirona se processa através de um efeito inibitório sobre os centros termorreguladores, promovendo em nível central uma normalização da produção de calor, que se encontra aumentada, sem, todavia promover redução da temperatura corporal normal.

De acordo com estudos terapêuticos realizados em pediatria¹², a dipirona exerce grande eficácia no tratamento da febre sendo uma das drogas mais comumente utilizadas.

1.2.1.2.6. Efeito antiespasmódico¹³

Conforme estudos laboratoriais e clínicos, a dipirona exerce nítido efeito espasmolítico. Admite-se que este efeito seja miotrópico (não central), isto é, ocorre através de uma inibição periférica da excitabilidade da musculatura lisa. Com isso é interrompido o círculo vicioso da dor espástica, onde o espasmo provoca mais dor, e a dor leva a mais espasmo, e assim sucessivamente.

Para potencializar o efeito espasmolítico da dipirona, usa-se uma associação desta com o brometo de N-butilescopolamina. Como anticolinérgico, há uma

complementação mútua por parte do brometo de N-butilescopolamina com a dipirona, de modo a interromper o fenômeno espasmo-dor-espasmo.

1.2.1.3. Métodos para determinação de dipirona

1.2.1.3.1. Espectrofotometria no UV – visível

Diversos procedimentos espectrofotométricos são relatados na literatura para a determinação de dipirona na região do UV visível, envolvendo reações com diferentes reagentes como o ácido cromotrópico¹⁴, PbO₂¹⁵, AgCl¹⁶, molibdato de amônio¹⁷ entre outros¹⁸⁻²³.

PEZZA et al.¹⁴ desenvolveram um método baseado na oxidação seletiva da dipirona, na presença de ácido sulfúrico, promovendo a formação de formaldeído que reage com o ácido cromotrópico, produzindo um composto violeta monitorado espectrofotometricamente em 575 nm. Primeiramente, esse procedimento foi utilizado como um “spot test” para a determinação qualitativa de dipirona, no qual se mostrou bastante seletivo. Em seguida, SAKIARA et al.¹⁸ utilizaram-se do mesmo princípio para propor um procedimento de quantificação do analito. A curva analítica apresentou uma resposta linear no intervalo de concentração de dipirona de 0,57 a 5,7 mg L⁻¹ ($1,6 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ a $1,6 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹) mostrando-se preciso e seletivo na determinação de dipirona em produtos farmacêuticos. Porém, para que haja a formação do composto violeta, são necessárias condições muito drásticas como a concentração de ácido sulfúrico de 11,2 mol L⁻¹ e um aquecimento a 100 °C, além de um tempo de reação de 25 min.

BAUTISTA et al.¹⁵ determinaram indiretamente a dipirona utilizando um reator em fase sólida contendo PbO₂ acoplado a um sistema de análise por injeção em fluxo. O método é baseado na reação do fármaco no reator, promovendo simultaneamente a oxidação da dipirona e a liberação de íons Pb(II), que age como catalisador na reação entre vermelho de pirogalol e persulfato de potássio, resultando na diminuição na coloração da solução. A diminuição da absorbância foi monitorada em 520 nm e a frequência de amostragem obtida foi de 72 determinações por hora. Com

esse procedimento, foi possível determinar dipirona no intervalo de concentração de $5,7 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a $4,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

PEREIRA et al.²¹ desenvolveram um procedimento para a determinação de dipirona baseado na geração de íons triiodeto num sistema de análise por injeção em fluxo pela mistura de soluções de iodato e iodeto-amido. Os íons triiodeto gerados em linha ao reagirem com a dipirona injetada no sistema oxidam o grupo metanossulfônico do fármaco a sulfato. O consumo de íons I_3^- pela dipirona provoca um decréscimo da absorvância (linha base) do complexo triiodeto-amido que foi monitorado espectrofotometricamente em 580 nm. O limite de detecção encontrado foi de $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ com uma frequência de amostragem de 60 h^{-1} .

Uma nova proposta para a determinação espectrofotométrica de dipirona foi desenvolvida por Lima et al.²⁴ explorando a reação do fármaco com p-dimetilaminobenzaldeído em um sistema FIA com micro-bombas, o que permite ao sistema uma maior versatilidade e simplicidade na comutação. A linearidade da curva analítica foi de 10 a 400 mg L^{-1} ($2,85 \times 10^{-5}$ a $1,14 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) com um limite de detecção de 1 mg L^{-1} ($2,85 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) e frequência de amostragem de 50 h^{-1} .

Dentro do nosso grupo de pesquisa, foram desenvolvidos alguns métodos para a quantificação de dipirona em produtos farmacêuticos utilizando espectrofotometria e análise por injeção em fluxo. MARCOLINO-JUNIOR et al.¹⁶ utilizaram um reator contendo AgCl acoplado a um sistema FIA de linha única. A determinação de dipirona é baseada na redução dos íons Ag^+ pela dipirona e conseqüente formação de uma suspensão coloidal de Ag^0 , sendo esta detectada turbidimetricamente em 425 nm. A quantidade de Ag^0 gerada é proporcional à concentração de dipirona inserida no sistema. A curva analítica foi linear no intervalo de concentração de dipirona entre $5,0 \times 10^{-4}$ e $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ com um limite de detecção de $1,3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ($3\sigma_B/\text{inclinação}$). O desvio padrão relativo de 10 determinações sucessivas de dipirona $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi de 1,8% e a frequência de amostragem alcançada foi de 45 determinações por hora.

Em outro trabalho proposto pelo grupo¹⁷, desenvolveu-se um sistema simples de linha única baseado na formação do azul de molibdênio que se trata de um procedimento clássico para a determinação de fósforo em amostras ambientais²⁵. O desenvolvimento da reação ocorre em duas etapas, a de formação do ácido molíbdico a

partir da reação do molibdato de amônio em meio ácido, sendo esta uma etapa lenta e, portanto predominante na cinética da reação. Em seguida, ocorre a redução do ácido molíbdico pela dipirona formando o azul de molibdênio que trata-se de um óxido de composição indefinida onde o molibdênio se encontra em dois estados de oxidação diferentes (Mo(V) e Mo(VI)). A curva analítica foi linear no intervalo de concentração de dipirona entre $5,0 \times 10^{-4}$ e $8,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ com um limite de detecção de $9,6 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ ($3\sigma_B$ /inclinação). O desvio padrão relativo de 10 determinações sucessivas de dipirona $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ foi de 1,7 % e a frequência de amostragem alcançada foi de 60 determinações por hora.

1.2.1.3.2. Métodos eletroquímicos

São poucos os procedimentos eletroquímicos utilizados para a quantificação de dipirona encontrados na literatura.

BELAL²⁶ propôs um procedimento utilizando a polarografia clássica para a determinação simultânea de ácido ascórbico (vitamina C) e dipirona em produtos farmacêuticos. O método é baseado nas ondas polarográficas produzidas pela oxidação dos dois analitos em meio de tampão acetato (pH 3,6). A separação das duas ondas ($>0,65$ V) foi suficiente para a quantificação dos dois analitos sem que houvesse qualquer interferência nas medidas. O método foi aplicado com sucesso na análise de produtos comerciais contendo dipirona e ácido ascórbico.

PEREZ-RUIZ e colaboradores²⁷ utilizaram um eletrodo de carbono vítreo para a determinação de dipirona em um sistema de análise por injeção em fluxo. O método é baseado na oxidação da dipirona sobre a superfície do eletrodo em um potencial de 0,4 V vs. Ag/AgCl em tampão amônio (pH 9,0). A frequência de amostragem alcançada foi de 54 h⁻¹ com uma curva de calibração linear no intervalo de $3,0 \times 10^{-6}$ a $3,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹.

Um sistema de análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica utilizando microeletrodos foi proposto por MATOS e colaboradores²⁸ para a determinação simultânea de dipirona, ácido ascórbico, dopamina e adrenalina. O método é baseado em um sistema de multicanais de detecção acoplados a uma célula de fluxo contendo um arranjo de microeletrodos modificados pela eletrodeposição de

diferentes metais nobres. Recentemente, este mesmo grupo de pesquisadores desenvolveu uma célula de fluxo contendo um eletrodo de ouro retirado a partir de CDs (compact discs) regraváveis²⁹ para determinação de dipirona em formulações farmacêuticas. Este método permitiu a quantificação de dipirona da ordem de 1×10^{-7} mol L⁻¹ e uma frequência de amostragem de 90 h⁻¹.

MEDEIROS et al.³⁰ desenvolveram um sistema FIA com detecção biamperométrica para a quantificação de dipirona. Dois sistemas redox (Fe(III)/Fe(II) e I₂/I⁻) foram estudados em termos de estabilidade, seletividade e sensibilidade. Os melhores resultados foram obtidos com o sistema Fe(III)/Fe(II) sendo este utilizado para a quantificação de dipirona em produtos farmacêuticos. O procedimento apresentou uma região de linearidade entre 10 e 50 mg L⁻¹ ($2,85 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ a $1,42 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹) e uma frequência de amostragem de 71 h⁻¹.

Em outro procedimento utilizando análise por injeção em fluxo, ALBUQUERQUE et al.³¹ construíram um eletrodo tubular recoberto por uma membrana polimérica contendo tetraoctilamônio como material eletroativo para a determinação potenciométrica de dipirona. O eletrodo apresentou uma resposta linear de $8,4 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ a $1,0 \times 10^{-1}$ mol L⁻¹ com uma inclinação de 62,1 mV dec⁻¹.

Um procedimento empregando uma célula eletroquímica construída com dois pequenos eletrodos de ouro foi proposto por PAIXÃO et al.³². Neste procedimento, dipirona é determinada através da titulação coulométrica desta com iodo gerado eletroquimicamente. A curva analítica apresenta linearidade entre 2 e 15 μmol L⁻¹ e limite de detecção de 1,1 μmol L⁻¹.

MARCOLINO-JUNIOR et al.³³ desenvolveram um procedimento para a determinação amperométrica de dipirona em formulações farmacêuticas utilizando um eletrodo de pasta de carbono acoplado a uma célula eletroquímica em um sistema de análise por injeção em fluxo. O método foi baseado na oxidação da dipirona sob ação de um potencial aplicado. Os registros dos valores de corrente (a +0,35 V) geraram uma relação linear com as concentrações de dipirona no intervalo de $4,91 \times 10^{-6}$ a $2,50 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. O desvio padrão relativo de 10 determinações sucessivas de dipirona $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ foi de 3,7 % e a frequência de amostragem alcançada foi de 90 determinações por hora. A principal vantagem no uso de EPC está na sua simples preparação e a facilidade na renovação da superfície.

1.2.1.3.3. Métodos fluorimétricos e quimiluminescentes

HUANG et al.³⁴ propuseram um procedimento baseado na quimiluminescência induzida pela oxidação do grupo sulfito da dipirona com oxigênio dissolvido na presença de Rodamina 6G e o surfactante Tween 80 em meio alcalino. O método foi aplicado na determinação de dipirona em produtos farmacêuticos e fluídos biológicos com um limite de detecção de 0,003 mg mL⁻¹ ($8,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹). O mesmo grupo de pesquisadores, otimizou este procedimento imobilizando o reagente Rodamine 6G em resina catiônica e acoplou o reator em um sistema de análise por injeção em fluxo³⁵. A curva analítica foi linear para concentrações de dipirona na faixa de 0,4 a 10 mg L⁻¹ ($1,1 \times 10^{-6}$ a $2,8 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹) com um limite de detecção de 0,15 mg L⁻¹ ($4,3 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹).

PEREZ-RUIZ et al.³⁶ basearam-se na oxidação da dipirona por íons Ce(IV). A fluorescência natural do Ce(III) formado pela oxidação da dipirona foi monitorada. A curva analítica mostrou uma linearidade na faixa de concentração de 0,5 a 4 µg mL⁻¹ ($1,4 \times 10^{-6}$ a $1,1 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹) com uma frequência de amostragem de 40 h⁻¹. Em outro procedimento, HUANG et al.³⁷ utilizam um reator contendo íons Ce(IV) imobilizados em resina catiônica para promover a reação quimiluminescente com a dipirona em meio de ácido sulfúrico sensibilizado pelo corante fluorescente Rodamine 6G. A curva analítica foi linear na faixa de concentração de 0,05 a 10 µg mL⁻¹ ($1,4 \times 10^{-7}$ a $2,8 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹) e foi aplicado na determinação de dipirona em produtos farmacêuticos.

Um procedimento baseado na quimiluminescência gerada pela reação entre luminol e periodato foi proposto por SONG et al.³⁸. Neste procedimento, tanto o luminol como o periodato são imobilizados em uma resina de troca iônica e a quimiluminescência gerada pela eluição destes para o fluxo transportador é inibida na presença de dipirona, diminuindo a intensidade do sinal analítico. Uma relação linear entre a concentração de dipirona e o sinal gerado foi obtida entre 0,1 e 50 ng mL⁻¹ ($2,85 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ a $1,42 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹) de dipirona, com um limite de detecção de 0,04 ng mL⁻¹ ($1,13 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹). Em seguida, este mesmo grupo de pesquisadores propuseram um sistema baseado na inibição da quimilumescência gerada pela reação

entre luminol e íons dicromato, na presença de dipirona. O sistema proposto apresentou uma resposta linear bastante sensível no intervalo de concentração de dipirona de $5,0 \times 10^{-11}$ a $5,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹, com um limite de detecção de $2,0 \times 10^{-11}$ mol L⁻¹ e frequência de amostragem de 60 h⁻¹.

ZHAO et al.³⁹ propuseram um sistema FIA baseado na oxidação direta da dipirona por MnO₂ imobilizado em um reator em fase sólida produzindo uma quimiluminescência intensificada pela adição de Rodamina B. A curva de calibração foi linear no intervalo de concentração de dipirona entre $4,0 \times 10^{-5}$ e $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ com um limite de detecção de $2,7 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e frequência de amostragem de 120 h⁻¹.

1.2.1.3.4. Cromatografia líquida de alta eficiência

Existem diversos relatos na literatura que utilizam a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para a investigação de diversas propriedades da dipirona⁴⁰⁻⁴³. No entanto, a maioria desses procedimentos é caracterizada por separar e identificar os metabólitos da dipirona que se formam após a administração do fármaco. São utilizados como matrizes fluídos biológicos tais como urina e plasma sangüíneo.

AGUNDEZ et al.^{41,42} determinaram os principais metabólitos da dipirona e da aminopirina em urina, utilizando a CLAE. Os metabólitos foram extraídos da urina com clorofórmio, e estes injetados como fase móvel e monitorados na região do UV em 254 nm. O método se mostrou bastante seletivo para a separação da dipirona, aminopirina e seus metabólitos.

KATZ et al.⁴⁴ desenvolveram um procedimento para a determinação simultânea dos metabólitos da dipirona em plasma sangüíneo por CLAE. Além da separação, EDDINE et al.⁴⁵ também propuseram um procedimento de quantificação da dipirona e de seus produtos de degradação utilizando a CLAE em uma coluna em fase reversa com detecção espectrofotométrica na região do UV. O método foi aplicado na análise de produtos farmacêuticos com um tempo de eluição de 12 minutos e limite de detecção da ordem de 3 – 5 ng do componente principal.

1.2.2. Paracetamol

1.2.2.1. Aspectos gerais

A acetanilida é o membro original deste grupo de drogas. Foi introduzida na prática médica em 1886 sob o nome de antifebrina por CAHN et al.³, que acidentalmente descobriram sua ação antipirética. Contudo, a acetanilida demonstrou ser excessivamente tóxica. Na busca por compostos menos tóxicos, foi feita uma tentativa com o *p*-aminofenol na crença de que o organismo oxidava a acetanilida a este composto. No entanto, a toxicidade não se reduziu e diversos derivados químicos do *p*-aminofenol passaram a ser testados. Um dos mais satisfatórios entre estes foi a fenacetina (acetofenetidina), introduzida na terapêutica em 1887, sendo amplamente empregada em misturas analgésicas até ser implicada na nefropatia do abuso dos analgésicos.

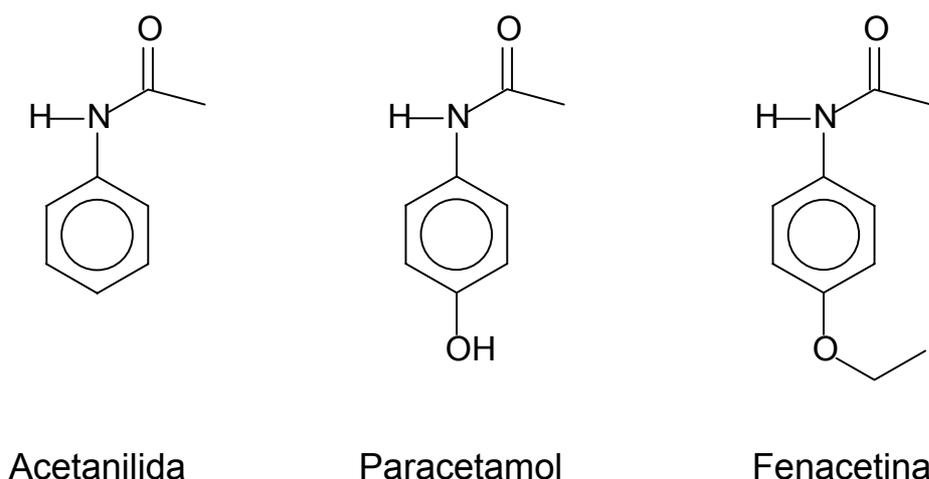


FIGURA 1.2. Estrutura molecular de alguns derivados do *p*-aminofenol.

O paracetamol (acetaminofeno, N-acetil-*p*-aminofenol) é um cristal branco inodoro ou um pó cristalino, moderadamente solúvel em água (1 g por 70 mL a 25°C) e apresenta grande estabilidade em solução aquosa em pH 6-7⁴⁶. Foi inicialmente empregado na medicina em 1893 por VON MERING³ mas só se tornou popular a partir de 1949, quando foi reconhecido como principal metabólito ativo tanto da acetanilida quanto da fenacetina. Não apresenta atividade antiinflamatória, mas mesmo assim é

provavelmente o analgésico-antipirético de segunda escolha, sobretudo para pacientes alérgicos ao AAS ou que sofrem de úlceras pépticas. Pode ser adquirido no comércio sem prescrição médica, o que o torna um fármaco de crescente uso doméstico, favorecendo a automedicação sendo esta uma das principais preocupações da ANVISA⁴⁷.

1.2.2.2. Propriedades farmacológicas

1.2.2.2.1. Farmacocinética³

O paracetamol e a fenacetina são metabolizados basicamente pelas enzimas microssômicas hepáticas. As vias metabólicas para as duas drogas são um pouco diferentes, exceto obviamente no sentido de que uma proporção considerável de fenacetina é desalquilada em paracetamol. Sua absorção é feita no trato gastrointestinal conjugando-se facilmente a proteínas plasmáticas de forma rápida e quase completa, distribuindo-se uniformemente pela maioria dos líquidos corporais. A concentração plasmática atinge um pico entre 30 e 60 minutos e a meia-vida plasmática é de cerca de duas horas após doses terapêuticas. É metabolizado no fígado e a eliminação ocorre a nível renal sendo que cerca de 90% da droga pode ser recuperada na urina no primeiro dia, basicamente após conjugação hepática com os ácidos glucorônico (cerca de 60%), sulfúrico (cerca de 35%) ou cisteína (cerca de 3%). Foram ainda detectadas pequenas quantidades de metabólitos hidroxilados e diacetilados.

1.2.2.2.2. Toxicologia

Apesar de apresentar certa toxicidade, o paracetamol é bem tolerado quando utilizado em doses terapêuticas e esporádicas. Ocasionalmente ocorrem erupções cutâneas e outras reações alérgicas. A erupção é eritematosa e urticariforme, mas algumas vezes é mais grave podendo ser acompanhada de febre e lesões da mucosa.

A dose oral convencional de paracetamol é de 325 a 1000 mg sendo que a dose total diária não deve exceder 4000 mg. Nas crianças, a dose única é de 40 a 480 mg dependendo da idade e do peso (10 a 15 mg kg⁻¹ de massa corpórea). No caso de intoxicação aguda, o efeito mais sério é a necrose hepática podendo chegar a níveis fatais⁴⁸. O paciente apresenta em geral um quadro de náuseas, vômito e dores abdominais. Essa toxicidade se deve a oxidação do grupamento amino do paracetamol, formando o hidroxiacetoaminofenol, seguido pela formação do N-acetil-*p*-benzoquinona imina (NAPQI). Essa substância é altamente eletrofílica e pode facilmente oxidar grupamentos tióis das proteínas sofrendo assim um ciclo redox com a formação de ânions superóxidos por meio de redução com oxigênio⁴⁹. Essa etapa de redução acaba produzindo peróxidos e por final radicais hidroxilas (·OH) implicando no stress oxidativo celular.

Doses terapêuticas únicas ou repetidas de paracetamol não apresentam efeito sobre os sistemas cardiovascular ou respiratório. Não ocorrem alterações ácido-básicas, nem produz irritação gástrica, erosão ou sangramento da mucosa estomacal, sintomas característicos da ingestão de salicilatos (AAS).

1.2.2.2.3. Farmacodinâmica

O paracetamol possui efeito analgésico e antipirético que não difere significativamente do AAS. Contudo, possui efeito antiinflamatório fraco, pois não inibe com eficiência a biossíntese das prostaglandinas, apesar de existirem evidências de que ele possa ser mais eficaz contra enzimas do sistema nervoso central (SNC) do que contra aquelas da periferia, talvez em virtude das elevadas concentrações de peróxidos encontradas nas lesões antiinflamatórias⁵⁰.

1.2.2.2.4. Efeito analgésico

O mecanismo de ação analgésica não está totalmente determinado. O paracetamol pode atuar predominantemente inibindo a síntese de prostaglandinas ao nível do sistema nervoso central e em menor grau bloqueando a geração do impulso

doloroso ao nível periférico. A ação periférica pode ser decorrente também da inibição da síntese de prostaglandinas ou da inibição da síntese ou da ação de outras substâncias que sensibilizam os nociceptores ante estímulos mecânicos ou químicos.

1.2.2.2.5. Efeito antipirético

O paracetamol provavelmente produz a antipirese atuando ao nível central sobre o centro hipotalâmico regulador da temperatura para produzir uma vasodilatação periférica que dá lugar a um aumento do fluxo de sangue na pele, de sudorese e da perda de calor. A ação ao nível central provavelmente está relacionada com a inibição da síntese de prostaglandinas no hipotálamo.

1.2.2.3. Métodos para determinação de paracetamol

1.2.2.3.1. Espectrofotometria no UV-Visível

A espectrofotometria direta no UV-visível é de longe a técnica instrumental mais utilizada em laboratórios industriais, principalmente por sua simplicidade e baixo custo dos equipamentos.

A maioria dos métodos espectrofotométricos publicados são baseados na reação de hidrólise do paracetamol ao 4-aminofenol e a formação de um composto indofenólico a partir da reação de acoplamento das mais diversas⁵¹⁻⁵³. Entretanto, muitos destes procedimentos requerem diversas etapas de tratamento da amostra, o que acarreta em um maior tempo de análise, sendo incompatível para análises de rotina.

Neste sentido, métodos automatizados em fluxo contínuo vem substituindo os procedimentos tradicionais utilizando a análise por injeção em fluxo em conjunto com a espectrofotometria no UV-visível^{51,54-60}.

CRIADO et al.⁶¹ desenvolveram um sistema FIA com detecção espectrofotométrica de paracetamol baseado na hidrólise alcalina “on-line” do analito utilizando um forno de microondas doméstico acoplado ao sistema, e posterior reação

do 4-aminofenol formado com o-cresol na presença de NaOH. O composto formado foi monitorado em 620 nm e apresentou uma região linear no intervalo de concentração de paracetamol entre 0,6 e 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e um limite de detecção de 0,2 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

A mesma estratégia de hidrólise foi adotada por BOUHSAIN et al.⁵⁵ que em seguida reagiram o 4-aminofenol formado com 8-hidroxiquinolina na presença de periodato de potássio, formando um corante indofenólico com absorção máxima em 608 nm. O método foi aplicado em formulações farmacêuticas, permitindo 70 determinações por hora, com um limite de detecção de 0,2 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Uma outra estratégia bastante empregada na determinação de paracetamol é a sua oxidação direta, seguida pela reação de acoplamento com um composto fenólico obtendo-se como produto o indofenol, a indoanilina ou indoaminas, dependendo da natureza dos reagentes empregados.

CALATAYUD et al.⁶² desenvolveram um sistema FIA baseado na reação do paracetamol com hexacianoferrato (III) e posterior reação do produto formado (N-acetil-*p*-benzoquinoneimina) com fenol. Ambas as reações ocorreram a 80°C em meio amoniacal. A curva analítica foi linear entre 0,25 e 30 mg L^{-1} de paracetamol com uma frequência de amostragem de 26 h^{-1} . ANICETO et al.⁵⁴ utilizaram o hipoclorito de sódio para promover a oxidação do paracetamol, e em substituição ao reagente tóxico fenol, utilizaram o salicilato de sódio em meio de NaOH, formando um composto com forte absorção em 620 nm. O procedimento apresentou linearidade entre 1,0 e 100 mg L^{-1} de paracetamol, com uma frequência de amostragem de 80 h^{-1} . Recentemente, LAVORANTE et al.⁶³ utilizaram a mesma reação supracitada substituindo o sistema FIA clássico pelo uso de válvulas solenóides e multicomutação, o que proporcionou a minimização no consumo de reagentes e na geração de resíduos.

A reação de nitrosação do paracetamol, que produz uma substância estável em meio alcalino com absorção máxima em 430 nm também tem sido empregada para o desenvolvimento de sistemas em fluxo com detecção espectrofotométrica⁶⁴⁻⁶⁶.

1.2.2.3.2. Métodos eletroquímicos

Existem diversos relatos na literatura de procedimentos eletroquímicos utilizados para a quantificação de paracetamol em diversos tipos de amostras⁶⁷⁻⁷⁶. Este tipo de procedimento é extremamente atrativo principalmente do ponto de vista da simplicidade, baixo custo da instrumentação e a facilidade de miniaturização. Entretanto, o principal problema na implementação em massa de procedimentos eletroquímicos na indústria farmacêutica está na dificuldade operacional e também na baixa seletividade dos sensores propostos. Neste sentido, busca-se cada vez mais a construção de sensores modificados, que respondam às características do sistema proposto⁷⁷.

GALVEZ et al.⁷⁸ desenvolveram um sistema FIA para a determinação de paracetamol com detecção biamperométrica. Dois pares redox (Fe(II)/Fe(III) e $\text{VO}_3^-/\text{VO}_2^+$) foram estudados com indicadores redox considerando a seletividade destes sistemas em relação a excipientes e antioxidantes contidos nas formulações farmacêuticas. A curva analítica foi linear na faixa de concentração de 0,1 a 7 $\mu\text{g mL}^{-1}$ utilizando Fe(III) e até 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ utilizando o metavanadato. As frequências de amostragem foram respectivamente 149 e 79 determinações por hora.

VIEIRA et al.⁷¹ desenvolveram um procedimento baseado na formação do produto da oxidação do paracetamol empregando a enzima *peroxidase* extraída do pepino (*Cucúrbita pepo*) imobilizada em um eletrodo de pasta de carbono. A detecção eletroquímica foi realizada pela redução da N-acetil-p-benzoquinona imina a paracetamol a um potencial de -0,10 V. A intensidade da corrente de pico catódico foi proporcional a concentração de paracetamol, obtendo-se uma curva analítica linear entre $1,2 \times 10^{-4}$ e $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, com um limite de detecção de $6,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

GOYAL et. al.⁷⁹ desenvolveram um eletrodo de ITO (óxido de titânio e índio) modificado com nanopartículas de ouro para a determinação de paracetamol utilizando voltametria de pulso diferencial. Utilizando este sensor, o potencial de oxidação do paracetamol foi diminuído em aproximadamente 110 mV além de obter-se um curva analítica na região de $2,0 \times 10^{-7}$ a $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Outro procedimento utilizando eletrodo de ouro para determinação de paracetamol foi proposto por PEDROSA et al.⁸⁰. Neste caso, desenvolveu-se um eletrodo de ouro modificado com uma monocamada de ácido 3-mercaptopropiônico acoplado a um sistema FIA com detecção amperométrica. Obteve-se uma região linear no intervalo de concentração de

paracetamol entre 0,15 e 15 mg L⁻¹ com um limite de detecção de 0,2 mg L⁻¹ e uma frequência de amostragem de 180 h⁻¹.

WANG et. al.⁸¹ propuseram a modificação covalente da superfície de um eletrodo de carbono vítreo com L-cisteína para a determinação de paracetamol. O método de modificação do eletrodo é baseado na eletrooxidação de amins aos seus cátions radicais análogos para formar uma ligação covalente estável entre o átomo de nitrogênio da amina e os grupos funcionais da superfície do eletrodo de carbono vítreo. A presença do filme de L-cisteína na superfície do eletrodo facilitou a transferência eletrônica, diminuiu o potencial de pico e aumentou significativamente a corrente de pico anódico. A região linear foi obtida entre $2,0 \times 10^{-7}$ e $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de paracetamol.

Outro tipo de modificação da superfície do eletrodo de carbono vítreo foi proposto⁸². Este trabalho descreve a determinação voltamétrica de paracetamol utilizando um eletrodo de carbono vítreo modificado com fulereno (C₆₀). De acordo com os autores, uma significativa melhora na resposta do eletrodo em termos de sensibilidade e seletividade foi observada permitindo a quantificação do analito no intervalo de concentração de 0,05 a 1,5 mmol L⁻¹ com um limite de detecção de 13,04 μmol L⁻¹. O procedimento foi aplicado na determinação de paracetamol em formulações farmacêuticas e amostras de urina.

1.2.2.3.3. Métodos fluorimétricos e quimiluminescentes

A oxidação do paracetamol a N-acetil-p-benzoquinona imina utilizando hexacianoferrato de potássio foi empregada para a determinação direta de paracetamol em um espectrofluorímetro acoplado a um sistema FIA⁸³. O produto da reação de oxidação apresenta fluorescência em 426 nm, após ter sido excitado em 241 nm. A medida da variação da intensidade de fluorescência do produto permitiu a determinação do fármaco em uma faixa de concentração entre 0,5 e 15 μg mL⁻¹.

Um outro sistema FIA foi proposto por ALAPONT et. al.⁸⁴ para a determinação indireta de paracetamol baseado no sistema quimiluminescente luminol-H₂O₂-[Fe(CN)₆]³⁻, cuja radiação emitida foi proporcional a concentração de paracetamol inserida no sistema. O paracetamol é oxidado pelo hexacianoferrato (III) e o excesso

do reagente é determinado pelo aumento da magnitude da quimiluminescência da reação entre o H_2O_2 e o luminol.

OLIVA et. al.⁸⁵ basearam-se na formação de uma substância cumarínica obtida pela reação entre o paracetamol e etilacetoacetato na presença de ácido sulfúrico. A substância formada apresenta acentuada fluorescência ($\lambda_{\text{exc}} = 446 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 478 \text{ nm}$). A curva analítica foi linear para uma faixa de concentração entre $6,6 \times 10^{-7}$ e $2,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, com um limite de detecção de $3,4 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

Um sistema FIA simples com detecção quimiluminescente foi desenvolvido por RUENGSITAGOON et. al.⁸⁶ para a determinação de paracetamol baseado na quimiluminescência produzida pela redução do tris(2,2'-bipiridil)rutênio(III) pelo paracetamol, e posterior oxidação do mesmo na presença de permanganato em meio de ácido sulfúrico. Após todas as condições otimizadas, foi obtida uma curva de calibração no intervalo de concentração entre 0,3 e $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ ($1,98 \times 10^{-6}$ e $3,31 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$).

1.3. Anti-histamínicos⁸

A histamina (FIGURA 1.3) foi obtida por síntese pela primeira vez em 1907, por WINDAUS & VOGT. Sua função biológica foi descoberta, em 1910, por BARGER & DALE. Estruturalmente, a histamina é a 5-imidazoloetilamina ou β -aminoetilimidazol. Estudos extensivos realizados por DALE & LAIDLAW, em 1910 e 1911, comprovaram sua importância em diversos processos fisiológicos, especialmente como estimulante de muitos músculos lisos e como depressora de certas funções, em doses elevadas a histamina acelera o batimento cardíaco e estimula a secreção de suco gástrico pelo estômago (podendo causar úlcera) entre outros efeitos. Estes efeitos podem ser antagonizados pelo uso de agentes anti-histamínicos, que são antagonistas competitivos da histamina.

Em 1966, para explicar a ação dual da histamina (vasodilatação capilar e produção de suco gástrico) ASH & SCHILD aventaram a hipótese de que há dois receptores para a histamina: H_1 e H_2 . Isto promoveu pesquisas no sentido de descobrir antagonistas do receptor H_2 , pois os anti-histamínicos clássicos somente bloqueiam a vasodilatação capilar resultante do estímulo ao receptor H_1 . Mais recentemente, dentre

muitos outros novos compostos sintetizados com a intenção de bloquear seletivamente o receptor H_2 , destacam-se a famotidina, a cimetidina e a ranitidina que são comercializadas no combate à úlcera péptica causada pelo efeito gástrico da histamina. Em estudos experimentais, a ranitidina mostrou-se quatro vezes mais ativa que os outros fármacos citados.

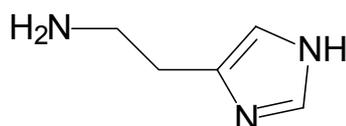


FIGURA 1.3. Estrutura molecular da histamina.

1.3.1. Ranitidina

1.3.1.1. Aspectos gerais

A ranitidina (FIGURA 1.4) (cloridrato de N-[2-[[[5-(dimetilamino)]-2-furanyl]metil]tio]etil]-N'-1,1-etenodiamina), é um pó cristalino de coloração branca solúvel em água e que apresenta atividade histamínica. Foi introduzida no mercado em 1981 e hoje é amplamente utilizada no tratamento de ulceração duodenal, úlcera gástrica benigna, esofagite péptica e outros distúrbios gástricos, pois atua como antiácido gástrico e reduz a produção de pepsina. É encontrada comercialmente sob a forma de base livre ou cloridrato.

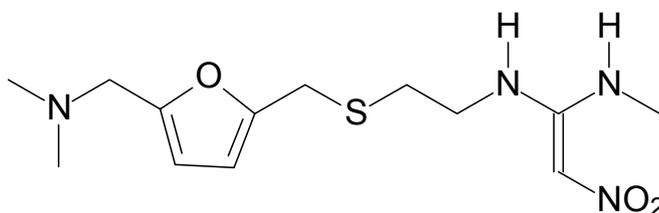


FIGURA 1.4. Estrutura molecular da ranitidina.

1.3.1.2. Propriedades farmacológicas⁸⁷

1.3.1.2.1. Farmacocinética

A absorção da ranitidina após administração oral é rápida, proporcionando geralmente a obtenção de picos plasmáticos nas duas horas que se seguem à administração. A absorção não é prejudicada significativamente por alimentos ou antiácidos. A meia-vida de eliminação da ranitidina é de aproximadamente duas horas. A droga é excretada por via renal, principalmente sob a forma inalterada, e em pequenas quantidades, sob forma de metabólitos. Seu principal metabólito é a N-óxido ranitidina, havendo também menores quantidades de S-óxido e desmetil-ranitidina. Após administração oral, recupera-se na urina de 24 horas cerca de 40% da droga, tanto sob a forma livre quanto metabolizada. Após injeção intravenosa, esta recuperação é da ordem de 75%.

1.3.1.2.2. Toxicologia

A dose recomendada para um indivíduo adulto é em média 150 mg duas vezes ao dia, ou uma [única dose diária de 300 mg. Em casos mais graves, pode-se administrar 300 mg duas vezes ao dia, ou a critério médico. O tratamento deve ser mantido mesmo com melhora dos sintomas, durante pelo menos 60 dias. Para evitar reincidência, pode-se instituir terapia de manutenção, com um comprimido de 150 mg ao deitar, por longos períodos. Em crianças, a dose oral recomendada para o tratamento de úlcera péptica é de 2 a 4 mg kg⁻¹ de peso corporal, duas vezes ao dia, até no máximo 300 mg de ranitidina por dia. Em ensaios clínicos ou tratamento de rotina, têm-se observado algumas reações adversas a seguir relacionadas, sendo que em muitos casos, não foram estabelecidas relações destes eventos com a terapêutica. Podem ocorrer alterações transitórias e reversíveis nos testes de função hepática, com relatos de hepatite reversível (hepatocelular, hepatocanalicular ou mista), com ou sem icterícia. Em alguns pacientes foram observadas alterações reversíveis na contagem de células sanguíneas (leucopenia e trombocitopenia), relatados também casos de

agranulocitose ou pancitopenia, algumas vezes com hipoplasia ou aplasia da medula óssea. Reações de hipersensibilidade (urticária, edema angioneurótico, broncoespasmo, hipotensão) têm sido raramente observadas após administração parenteral ou oral de ranitidina. Estas reações têm ocorrido ocasionalmente após uma única dose. Também têm sido descritos raros casos de bradicardia e bloqueio atrioventricular, como ocorre com outros antagonistas dos receptores H_2 . Numa proporção muito pequena de pacientes têm-se observado cefaléia, algumas vezes grave, tontura e confusão mental reversível, esta, predominantemente em pacientes gravemente enfermos e muito idosos. Houve referência de alguns casos de visão borrada reversível, sugestiva de distúrbio na acomodação visual.

1.3.1.2.3. Farmacodinâmica

Os agentes anti-histamínicos são utilizados no controle de certas afecções de fundo alérgico, mas apenas como paliativos. Algumas destas drogas são utilizadas também como agentes antitussígenos, ansiolíticos, antipsicóticos, drogas antiparkinsonianas, antieméticos, em enjôos de viagem e antiúlcera (é o caso da ranitidina).

A ranitidina é um antagonista H_2 da histamina e caracteriza-se pela elevada seletividade e ação imediata. Seu efeito inibitório sobre a secreção (basal ou estimulada) de suco gástrico ocorre através da redução do volume da secreção e conseqüentemente da redução de ácido e pepsina no estômago.

1.3.1.2.4. Mecanismo de ação

Os anti-histamínicos são antagonistas competitivos da histamina, bloqueando os seus receptores H_1 ou H_2 . A ativação do primeiro resulta em vasodilatação capilar enquanto que a ativação do segundo estimula a produção de suco gástrico. O receptor H_1 é bloqueado pelos anti-histamínicos clássicos. O receptor H_2 é bloqueado pela famotidina, cimetidina e ranitidina⁸.

Dos resultados obtidos em cálculos de orbital molecular, KIER deduziu que a histamina existe em duas conformações preferidas e pode, portanto, exercer duas ações biológicas distintas. Na sua conformação *anti* a histamina complexa-se com o receptor H₁ e na sua conformação *gauche* com o receptor H₂. Em 1976, WEINSTEIN e colaboradores⁸⁸ propuseram que a interação da histamina com o receptor H₂ se daria por três pontos: a atração eletrostática entre o nitrogênio protonado da cadeia lateral e o sítio I do receptor; ponte de hidrogênio entre o nitrogênio 3 do anel imidazólico e o sítio II do receptor e ponte de hidrogênio entre o nitrogênio 3 do anel imidazólico e o sítio III do receptor.

1.3.1.3. Métodos para a determinação de ranitidina

Vários métodos são descritos na literatura para a determinação de ranitidina por detecção espectrofotométrica^{33,68,89-91}, fluorimétrica⁹²⁻⁹⁴, por quimiluminescência^{95,96}, eletroquímica⁹⁷⁻¹⁰⁵, e HPLC¹⁰⁶⁻¹⁰⁹. Entretanto, alguns desses procedimentos são de alto custo, enquanto outros são trabalhosos e/ou requerem profissionais com boa capacitação, pois envolvem diversas etapas analíticas.

1.3.1.3.1. Espectrofotometria no UV-visível

AMIN et al.³³ desenvolveram três procedimentos colorimétricos para a determinação de ranitidina, na presença de seus produtos de degradação. O primeiro procedimento foi baseado na oxidação da droga pela N-bromosuccinamida (NBS) e determinação do NBS em excesso pela medida do decréscimo da absorbância quando este reage com o indicador amaranto. Os outros procedimentos envolvem a adição de um excesso de Ce⁴⁺ e a determinação do oxidante pelo decréscimo da coloração vermelha pela reação com o ácido cromotrópico ou da coloração laranja formada pela reação com rodamina 6G. Os procedimentos apresentaram uma linearidade no intervalo de concentração entre 0,1-3,6 mg L⁻¹ e índices de recuperação no intervalo de 98,9-101,0 %.

Um procedimento simples e sensível para a determinação de ranitidina foi proposto por HASSAN et al.⁸⁹. O método envolve a reação do fármaco com permanganato de potássio em meio alcalino, formando um composto de coloração verde, monitorado após 8 minutos de reação em 610 nm. A curva analítica foi linear no intervalo de concentração entre 0,8 e 4,0 mg L⁻¹, sendo satisfatoriamente aplicada na determinação desse fármaco em produtos comerciais contendo ranitidina.

Um sistema de análises por injeção em fluxo com extração líquido-líquido do complexo formado entre ranitidina e azul de bromotimol em clorofórmio, foi proposto por PEREZ-RUIZ et al.⁹¹ para a determinação espectrofotométrica de ranitidina. A curva analítica foi linear no intervalo de concentração de $1,0 \times 10^{-5}$ a $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e 40 determinações por hora foram obtidas.

KELANI et al.¹¹⁰ utilizaram a espectrofotometria derivativa para o determinação de famotidina, cimetidina e ranitidina. O método é baseado na reação dos fármacos com peróxido de hidrogênio formando seus sulfóxidos correspondentes. Para a ranitidina, foram aplicadas as derivadas de ordem zero, de primeira e segunda ordem nos comprimentos de onda de 313, 334 e 255 nm, respectivamente obtendo uma linearidade entre 2 e 20 µg mL⁻¹.

1.3.1.3.2. Métodos fluorimétricos e quimiluminescentes

LÓPEZ-ERROZ et al.⁹⁴ desenvolveram um sistema FIA com detecção fluorimétrica baseado na reação da ranitidina com hipoclorito de sódio para produzir uma amina primária que reage com orto-ftalaldeído e 2-mercaptoetanol para formar derivados altamente fluorescentes. A curva analítica foi linear no intervalo de concentração de 20-500 µg L⁻¹ e limite de detecção de 13 µg L⁻¹. O método foi satisfatoriamente aplicado na determinação de ranitidina em produtos farmacêuticos.

Uma metodologia utilizando análise por injeção em fluxo foi descrita por BARNETT et al.⁹⁵ para a determinação de ranitidina baseada na sua reação quimiluminescentes com o tris(2,2'-bipiridil)rutênio(III). A ranitidina foi quantificada em produtos farmacêuticos utilizando o método de adição de padrão, com um limite de detecção de $6,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹.

AHMAD et. al.⁹² basearam-se na reação de famotidina e ranitidina com 1,4-benzoquinona gerando um produto de coloração avermelhada com emissão de fluorescência em 665 nm quando excitado em 290 nm. A curva de calibração foi linear no intervalo de concentração de ranitidina entre 0,21 e 1,4 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ($5,98 \times 10^{-7}$ e $3,99 \times 10^{-6}$ mol L^{-1}).

ZHENG et. al.⁹⁶ utilizaram um eletrodo de pasta de carbono modificado com NiO para promover a eletrooxidação do luminol. Na presença de ranitidina, a quimiluminescência é acentuada gerando uma dependência linear com a concentração de ranitidina no intervalo de $3,0 \times 10^{-8}$ a $9,0 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} com um limite de detecção de $9,0 \times 10^{-9}$ mol L^{-1} .

1.3.1.3.3. Métodos eletroquímicos

HASSAN et. al.⁹⁹ desenvolveram um sistema FIA com detecção potenciométrica de ranitidina, utilizando um eletrodo de grafite modificado com uma membrana de PVC contendo um par iônico constituído pelo cátion do fármaco com os ânions tungstosilicato e tungstofosfato. Este procedimento permitiu a determinação de ranitidina no intervalo de concentração entre $1,0 \times 10^{-6}$ e $1,0 \times 10^{-2}$ mol L^{-1} com uma rápida e estável resposta nernstiniana. Esta mesma metodologia foi adotada por HUNAG et. al.¹⁰⁰ que construíram um sensor baseado na formação do par iônico entre a ranitidina e o tetrafenilborato. As propriedades deste sensor foram estudadas em detalhe e mostraram uma boa estabilidade, uma resposta nernstiniana no intervalo de concentração de $5,0 \times 10^{-4}$ a $1,0 \times 10^{-1}$ mol L^{-1} e um limite de detecção de $2,8 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} .

O comportamento voltamétrico da ranitidina foi estudado em meio aquoso por MALAGUTTI et al.¹⁰³ utilizando um ultramicroeletrodo de platina com eletrodepósito de mercúrio e eletrodo de gota pendente de mercúrio. Diversas técnicas eletroanalíticas foram avaliadas, sendo que a voltametria de onda quadrada, apresentou maior sensibilidade para a determinação de ranitidina com um limite de detecção de $3,5 \times 10^{-8}$ mol L^{-1} .

JAQUE-OLMEDO et. al.¹⁰² desenvolveram um sistema FIA com detecção polarográfica baseado na redução do grupo nitro da ranitidina a hidroxilamina aplicando-se um potencial de -1,4 V vs. Hg⁰ (poço de mercúrio). O procedimento foi linear no intervalo de concentração de $2,38 \times 10^{-5}$ a $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ e limite de detecção de $7,15 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹.

Também utilizando um eletrodo de mercúrio, ALTINOZ et. al.⁹⁸ utilizaram a voltametria de pulso diferencial com redissolução catódica para a determinação de ranitidina em tecido do estômago de pacientes tratados com esse fármaco. O método é baseado no acúmulo da ranitidina sobre a gota pendente de mercúrio, seguido pela varredura de potenciais no sentido catódico gerando um pico de redução em torno de -0,56 V vs. Ag/AgCl, que foi linear no intervalo de concentração de ranitidina entre $2,6 \times 10^{-9}$ e $1,27 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹.

1.4. Anti-hipertensivos vasodilatadores^{8,111}

Os agentes anti-hipertensivos são fármacos usados no tratamento da hipertensão – condição na qual a pressão sistólica excede 160 mm de Hg ou a pressão diastólica excede 95 mm de Hg.

Diversos tipos de fármacos são disponíveis para o tratamento da hipertensão com a finalidade de reduzir a pressão sanguínea a níveis normais, se possível, ou à menor pressão suportada pelo paciente. Podem ser empregados individualmente, mas muitas vezes, é necessário empregar uma associação deles, de forma a manter uma redução eficaz da hipertensão.

Considerando-se que os agentes anti-hipertensivos incluem estruturas químicas amplamente variadas, são melhor classificados em função de seu mecanismo de ação. Assim há os fármacos que agem sobre mecanismos centrais ou reflexos, que agem sobre o sistema nervoso autônomo e os que agem diretamente sobre os vasos sanguíneos periféricos (vasodilatadores).

Muitos vasodilatadores são clinicamente importantes, utilizados no tratamento de condições comuns e crônicas, incluindo hipertensão, insuficiência cardíaca e angina de peito. Dividem-se entre os vasodilatadores de ação direta, atuando preferencialmente sobre a musculatura lisa e diretamente no coração, e os de

ação indireta, que são os que inibem a vasoconstrição de mediação simpática e os que inibem o sistema renina-angiotensina, sendo este último o caso do captopril.

1.4.1. Captopril

1.4.1.1. Aspectos gerais

O captopril é um dos medicamentos anti-hipertensivos mais consumidos no Brasil. Constitui-se em um pó cristalino, branco ou levemente amarelado, com leve odor característico de sulfeto, facilmente solúvel em água e em soluções alcalinas, etanol, clorofórmio e metanol. Apresenta um ponto de fusão entre 104 e 110°C. Foi o primeiro inibidor da enzima conversora de angiotensina ativo por via oral, obtido por síntese química.

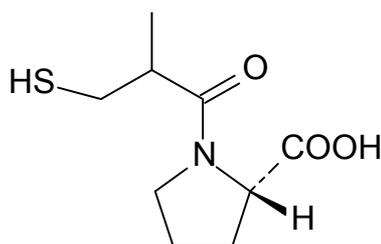


FIGURA 1.5. Estrutura molecular do captopril.

Seu efeito no organismo se dá pela inibição seletiva da enzima conversora da angiotensina (ECA). Esta enzima converte angiotensina I em angiotensina II e também inativa a bradicinina. Todos os inibidores ECA, como o captopril, bloqueiam de forma eficaz a conversão de angiotensina I em angiotensina II, também, todos possuem a mesma indicação terapêutica, perfis de efeitos adversos e contra-indicação semelhantes. Porém, o captopril apresenta menor custo e efeito mais favorável sobre a qualidade de vida. Uma vez que a hipertensão costuma exigir tratamento para toda a vida, estas características melhoram a obediência do paciente.

1.4.1.2. Propriedades farmacológicas

1.4.1.2.1. Farmacocinética

O captopril é rapidamente absorvido por via oral e os picos de concentração plasmática máxima ocorrem em cerca de 1 hora após administração. A absorção mínima média é de aproximadamente 75% sendo que a presença de alimento no trato gastrointestinal reduz a absorção em cerca de 30 a 40%. Aproximadamente 25 a 30% da droga circulante se liga às proteínas plasmáticas e a meia-vida de eliminação aparente no sangue é menor do que 3 horas. A biotransformação da droga ocorre a nível hepático e mais de 95% da dose absorvida é eliminada na urina sendo 40 a 50% como droga inalterada e o restante como metabólitos (dímero dissulfeto do captopril e dissulfeto captopril-cisteína). O comprometimento renal pode resultar em acúmulo da droga.

1.4.1.2.2. Toxicologia

O captopril foi inicialmente utilizado em doses que, retrospectivamente, eram excessivas. Nessas altas doses causava erupções cutâneas, distúrbios do paladar, neutropenia e proteinúria maciça. Esse padrão de efeitos adversos foi atribuído à presença do grupo sulfidríla na molécula, mais do que a própria inibição da ECA. Os efeitos adversos que estão relacionados com a inibição da angiotensina são os comuns a todas as drogas desta classe e incluem a hipotensão, principalmente após a primeira dose, as tosse secas, decorrentes do acúmulo de bradicinina no organismo e a insuficiência renal, entre outros menos relevantes.

A dose habitual ministrada ao paciente é de cerca de 150 mg diários de captopril dividido em duas ou três doses. Uma dose máxima de 450 mg por dia não deve ser excedida.

1.4.1.2.3. Farmacodinâmica

Reduções máximas da pressão arterial são freqüentemente observadas 60 a 90 minutos após administração oral de uma dose individual de captopril. A redução

da pressão arterial pode ser progressiva; assim, para se atingir os efeitos terapêuticos máximos, podem ser necessárias várias semanas de tratamento. Os efeitos hipotensores do captopril e dos diuréticos tipo tiazídicos são aditivos. A pressão arterial é reduzida com a mesma intensidade, tanto na posição ereta, quanto supina. Os efeitos ortostáticos e taquicardia não são freqüentes, porém, podem ocorrer em pacientes com depleção de volume. Não foi observado nenhum aumento abrupto da pressão arterial após a interrupção súbita do uso do fármaco. Em pacientes com insuficiência cardíaca, foram observadas reduções significativas da resistência vascular periférica (sistêmica) e da pressão arterial (pós-carga), redução da pressão capilar pulmonar (pré-carga) e da resistência vascular pulmonar. Observou-se também aumento do débito cardíaco e do tempo de tolerância ao exercício (TTE). Estes efeitos clínicos e hemodinâmicos ocorrem após a primeira dose e parecem persistir durante todo o período da terapia. Observou-se melhora clínica em alguns pacientes onde os efeitos hemodinâmicos agudos foram mínimos.

1.4.1.2.4. Mecanismo de ação

A angiotensina é uma enzima carboxipeptidase, que cliva o par C-terminal de aminoácidos de substratos peptídicos. Seu sítio ativo contém um átomo de zinco. O desenvolvimento do captopril foi um dos primeiros exemplos de planejamento bem sucedido de drogas baseado no conhecimento químico da molécula alvo. Foi descoberto que vários peptídeos pequenos atuam como inibidores fracos da enzima; entretanto, esses compostos não demonstraram ser apropriados como drogas, em virtude de sua baixa potência e pouca absorção oral. O captopril foi planejado para combinar as propriedades estéricas desses antagonistas peptídicos numa molécula não peptídica, que contém um grupo sulfidrila apropriadamente posicionado para ligar-se ao átomo de zinco, acoplado a um resíduo de prolina que se liga ao sítio da enzima que normalmente acomoda a leucina terminal da angiotensina I, impedindo dessa forma a sua conversão a angiotensina II.

1.4.1.3. Métodos para a determinação de captopril

Diversos procedimentos são encontrados na literatura para a determinação espectrofotométrica¹¹²⁻¹¹⁹, eletroquímica¹²⁰⁻¹³³, fluorimétrica¹³⁴, quimiluminescente^{83,135-139} e por HPLC¹⁴⁰⁻¹⁴². A seguir são descritos sucintamente os trabalhos mais relevantes para a determinação de captopril utilizando as técnicas supracitadas.

1.4.1.3.1. Espectrofotometria no UV-visível

PIMENTA et. al.¹⁴³ desenvolveram um procedimento utilizando análise por injeção seqüencial (SIA) baseando-se na formação de um complexo entre captopril e Pd(II) em meio ácido e monitorado espectrofotometricamente em 400 nm. O método apresentou linearidade entre $2,0 \times 10^{-4}$ e $1,4 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹. Um outro grupo de pesquisadores desenvolveu um sistema FIA baseado na reação do captopril com o reagente de Folin-Ciocalteu sendo o produto formado detectado espectrofotometricamente em 740 nm¹¹⁶. A curva analítica apresentou boa linearidade no intervalo de concentração de 2,0 a 50 µg mL⁻¹, com uma freqüência de amostragem de 60 h⁻¹.

TZANAVARAS et al¹¹⁸ desenvolveram um sistema FIA reverso baseado no efeito inibitório do captopril na reação de formação do complexo de Co(II) com o 2,2-dipiridil-2-piridilhidrazona (DPPH) permitindo a determinação de captopril entre 0 e 250 mg L⁻¹ e uma freqüência de amostragem de 60 h⁻¹. O mesmo grupo de pesquisadores desenvolveu outros dois procedimentos utilizando análise por injeção em fluxo (FIA) e análise seqüencial (SIA), respectivamente, para a determinação de captopril baseado na reação de oxidação deste com Fe(III)¹¹⁹. O Fe(II) gerado reage com o DPPH em meio ácido, para formar um complexo de coloração avermelhada com absorção máxima em 535 nm. Ambos os métodos permitiram a determinação do analito no intervalo de concentração de 7,0 a 1000 mg L⁻¹ para o sistema FIA e 12 a 1000 mg L⁻¹ para o sistema SIA a uma freqüência de amostragem de 120 e 60 determinações por hora respectivamente.

1.4.1.3.2. Métodos fluorimétricos e quimiluminescentes

A reação entre o captopril e permanganato de potássio em meio ácido, foi investigada por PULGARÍN et. al.⁸³ para a geração de quimiluminescência, que foi intensificada com a adição de formaldeído como reagente fluorescente. O sinal quimiluminescente gerado foi utilizado para determinação de captopril com um limite de detecção de $0,011 \mu\text{g mL}^{-1}$.

XINRONG et. al.¹³⁵ desenvolveram um procedimento baseado na geração de quimiluminescência após a reação do captopril com o sistema luminol- H_2O_2 -Cu(II), sendo que o Cu(II) age como catalisador no processo de emissão de luz da reação entre o luminol e o H_2O_2 . Na presença de captopril o efeito catalítico do Cu(II) decresce devido à formação de um complexo com o grupo sulfidrílico do captopril. A aplicação deste procedimento permitiu a determinação de captopril no intervalo de concentração entre $1,0 \times 10^{-6}$ e $8,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

ZHANG et. al.¹³⁶ propuseram um sistema FIA com detecção quimiluminescente baseado na reação com Ce(IV) em meio de ácido sulfúrico gerando um sinal intensificado pela adição de Rodamina B. O procedimento proposto apresentou uma curva de calibração linear no intervalo de concentração de captopril entre $1,0 \times 10^{-7}$ e $6,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ com um limite de detecção de $3,7 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. Utilizando a Rodamina 6G como fluoróforo¹³⁷, a região linear variou de $1,0 \times 10^{-6}$ e $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e uma frequência de amostragem de 500 determinações por hora.

ECONOMOU et. al.¹⁴⁴ utilizaram o mesmo sistema luminol- H_2O_2 para determinação de captopril, pois este promove um aumento no sinal quimiluminescente quando presente na reação. Um sistema FIA foi avaliado para a quantificação do analito com uma linearidade entre $5,0$ e $5000 \mu\text{g L}^{-1}$ e uma frequência de amostragem de 180 h^{-1} .

1.4.1.3.3. Métodos eletroquímicos

STEFAN et. al.¹²⁴ desenvolveram um eletrodo de pasta de carbono modificado com 2-hidróxi-3-trimetilamoniopropil $-\beta$ -ciclodextrina para a determinação potenciométrica de captopril em formulações farmacêuticas, baseado na afinidade deste composto pelo grupo sulfidril do captopril. O procedimento apresentou linearidade no intervalo de concentração entre $1,0 \times 10^{-6}$ e $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, com um

limite de detecção de $2,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Este mesmo grupo de pesquisadores também desenvolveu um sistema SIA com detecção amperométrica de captopril, utilizando um biossensor a base da enzima *L-aminoácido oxidase*¹²⁵. O procedimento mostrou-se bastante seletivo, permitindo a determinação de captopril no intervalo de concentração entre $5,0 \times 10^{-8}$ e $1,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, com um limite de detecção de $1,6 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ e uma frequência de amostragem de 80 h^{-1} .

Um eletrodo de diamante dopado com boro foi utilizado por SIANGPROH et. al.¹³⁰ para determinação de captopril empregando diversas técnicas. Em comparação com um eletrodo de carbono vítreo, este procedimento apresentou melhores resultados em termos de sensibilidade, reprodutibilidade e perfil voltamétrico. Utilizando análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica, foi possível determinar captopril no intervalo de concentração entre $5,0 \times 10^{-7}$ e $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, com um limite de detecção de $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

PARHAM et al.¹³¹ desenvolveram um procedimento utilizando voltametria de onda quadrada com um eletrodo gotejante de mercúrio para a determinação de captopril em soro sanguíneo. Na descrição do trabalho não fica claro o mecanismo de ação do eletrodo. Porém, é bem provável que esteja ligado à interação do grupo sulfidril do captopril com o Hg ¹²⁹. Qualquer outra proposta não justifica o uso do eletrodo gotejante de mercúrio, já que outros materiais menos tóxicos são capazes de promover a redução do captopril em torno de $-0,8 \text{ V vs. Ag/AgCl}$. A curva analítica apresentou linearidade entre $0,5$ e $50 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Baseando-se na reação de oxidação do captopril, ZIYATDINOVA et. al.¹³³ propuseram um procedimento utilizando a voltametria de redissolução catódica para a determinação de captopril. A primeira etapa do trabalho trata-se da acumulação do produto de oxidação do captopril em um eletrodo de platina, aplicando-se um potencial de $1,2 \text{ V vs. Ag/AgCl}$. Em seguida, utilizando voltametria linear, promoveu-se a regeneração do captopril, gerando um pico catódico em torno de $0,35 \text{ V}$ que foi linear em função da concentração de captopril no intervalo de $1,2 \times 10^{-6}$ e $3,2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, com um limite de detecção de $9,2 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

1.5. Objetivos

Este trabalho teve como objetivo a construção e caracterização eletroquímica de eletrodo de pasta de carbono (EPC) e de eletrodos de pasta de carbono modificados (EPCMs) com complexos inorgânicos e resina de troca iônica modificada e posterior aplicação na quantificação de espécies de interesse farmacêutico empregando voltametria linear, amperometria e sistema por injeção em fluxo.

CAPÍTULO 2 – FUNDAMENTOS TEÓRICOS

CAPÍTULO 2 – FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1. Eletrodos quimicamente modificados

O termo eletrodo quimicamente modificado (EQM) foi inicialmente utilizado na eletroquímica por MOSES et. al.¹⁴⁵ em 1975 para designar eletrodos com espécies quimicamente ativas, convenientemente imobilizadas em suas superfícies com o objetivo de pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo/solução. A modificação do eletrodo normalmente confere a este as características físico-químicas (reatividade, seletividade, etc.) do modificador, possibilitando assim o desenvolvimento de dispositivos com resposta adequada para vários propósitos e aplicações desde a catálise de reações orgânicas e inorgânicas até a transferência de elétrons em moléculas de interesse. Nesse aspecto, diversas revisões são encontrados na literatura que descrevem as diferentes estratégias na construção dos eletrodos modificados¹⁴⁶⁻¹⁴⁹.

A maior parte das aplicações analíticas de EQMs envolve técnicas voltamétricas ou amperométricas. Entretanto, é possível encontrar na literatura alguns casos de utilização de EQMs como eletrodos íon-seletivos. Além da eletroanálise, que tem se destacado como uma das áreas mais ativas neste campo, os EQMs tem sido utilizados com fins outros que não analíticos, incluindo estudos básicos de eletrocatalise, de cinética de transferência de elétrons, de permeação de membranas, eletrossíntese orgânica e fotoeletroquímica.

A escolha do material como eletrodo base, cuja superfície será modificada, é um aspecto muito importante na preparação de um EQM. Este substrato deve apresentar características eletroquímicas apropriadas e também ser adequado para o método de modificação escolhido. Entre os materiais convencionais destacam-se o ouro, platina, carbono vítreo, mercúrio na forma de filme, fibras de carbono e pasta de carbono. Carbono vítreo reticulado, material plástico condutor e vidros condutores estão incluídos entre os substratos menos usuais.

2.1.1. Métodos de modificação da superfície do eletrodo

2.1.1.1. Adsorção

Consiste na dissolução do agente modificador em um solvente apropriado e na exposição, em geral, por imersão, do eletrodo a esta solução. A interação entre o modificador e a superfície do eletrodo se dá fisicamente podendo ser removido facilmente. Além disso, a adsorção é um processo de equilíbrio, o que pode levar a ocorrência de dessorção do modificador para o meio durante sua utilização, resultando na perda de reprodutibilidade e redução da vida útil do EQM preparado desta forma¹⁵⁰. Este processo é pioneiro e o mais simples para fixação de um modificador na superfície do eletrodo. No entanto, o mesmo apresenta a desvantagem de produzir EQMs com somente uma monocamada do modificador imobilizado, o que geralmente limita a faixa de resposta linear.

2.1.1.2. Ligação covalente

Neste caso, o modificador é ligado covalentemente à superfície do eletrodo. Reações de silanização, envolvendo organossilanos e óxidos presentes na superfície do eletrodo, são bastante exploradas. Eletrodos a base de carbono podem ser modificados manipulando-se a reatividade de seus grupos funcionais oxigenados frente a reagentes como aminas, cloreto de tionila, organossilanos e outros¹⁵¹.

A FIGURA 2.1 representa um tipo de modificação da superfície do eletrodo por ligação covalente.

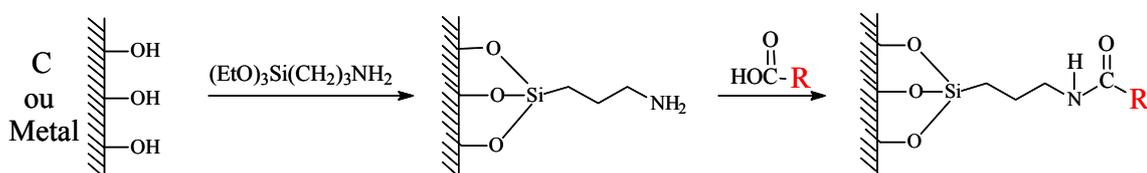


FIGURA 2.1. Representação de modificação covalente sobre eletrodo metálico ou de grafite.

O método de imobilização via ligação covalente é bastante estável em relação aos demais métodos, contudo requer maior tempo para a realização, gera cobertura

com no máximo uma monocamada imobilizada, além de ser mais difícil de se executar. Seu emprego é de especial interesse para a imobilização de enzimas.

2.1.1.3. Recobrimento com membranas poliméricas

Esta técnica consiste no recobrimento da superfície do eletrodo com filmes poliméricos condutores ou permeáveis ao eletrólito suporte e à espécie de interesse. Vários métodos são utilizados na formação do filme polimérico na superfície do eletrodo, tais como: recobrimento por imersão (dip-coating), eletrodeposição, fotodeposição, eletropolimerização, entre outros.

Ao contrário das técnicas vistas anteriormente, a modificação com membranas poliméricas permite a imobilização de muitas monocamadas da espécie ativa na superfície modificada, o que resulta na ampliação da resposta eletroquímica.

2.1.1.4. Materiais compósitos

São formados pela combinação de duas ou mais fases de diferente natureza. O grupo mais representativo deste tipo de eletrodo são os eletrodos de pasta de carbono, que se trata de uma mistura de grafite com um líquido orgânico imiscível em soluções aquosas. Uma das principais vantagens da pasta de carbono para a construção de sensores é que esses eletrodos possibilitam a modificação interna do material eletródico, diferente do que ocorre com os eletrodos sólidos convencionais. Isso significa que é possível a co-imobilização de enzimas, cofatores, mediadores, estabilizadores resultando numa configuração de eletrodo sem a necessidade de adição de reagentes durante a determinação. Outro tipo de eletrodo compósito bastante empregado são os de grafite-epóxi.

2.1.2. Aplicações e funções básicas de um eletrodo modificado

2.1.2.1. Acumulação

Consiste em pré-concentrar o analito de interesse na superfície modificadora através da interação química seletiva entre a espécie a ser acumulada e o modificador. Os principais mecanismos de acumulação podem envolver os processos de complexação, troca iônica, ligação covalente, quimissorção e extração.

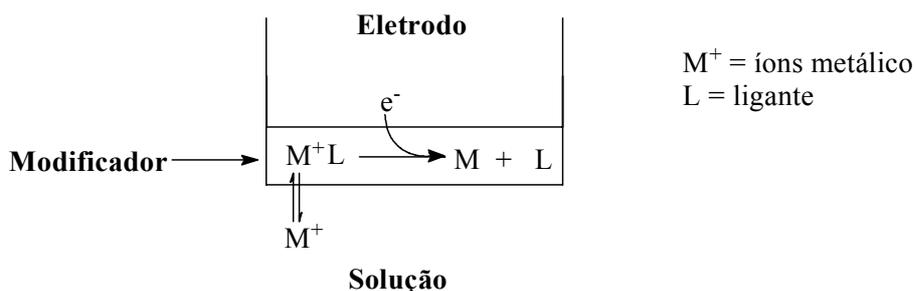


FIGURA 2.2. Esquema do princípio de ação do modificador na superfície de um eletrodo para acumulação.

2.1.2.2. Transformação química

Trata-se da reação seletiva entre um analito inicialmente eletroinativo, e um reagente apropriado imobilizado na superfície do eletrodo formando um produto eletroativo que pode ser detectado eletroquimicamente.

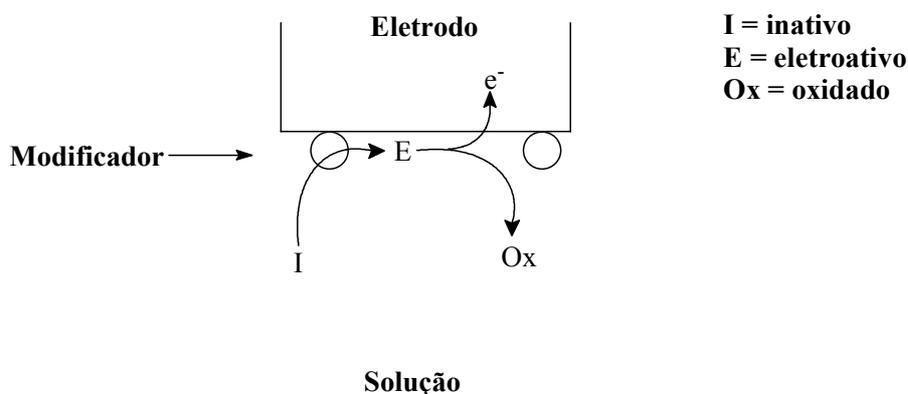


FIGURA 2.3. Esquema do mecanismo de ação do modificador na superfície de um eletrodo para transformação química.

2.1.2.3. Eletrocatalise

A principal função da eletrocatalise é reduzir a energia de ativação da transferência de elétrons, aumentando a velocidade da reação e, conseqüentemente, ampliando o sinal analítico. A oxidação ou redução de um substrato que apresenta cinética de transferência de elétrons lenta ocorre, na maioria das vezes, bem acima do seu valor termodinâmico. Todavia, essa mesma reação pode ser catalisada pela modificação superficial do eletrodo, resultando não somente numa troca de elétrons mais rápida entre o eletrodo e o analito, bem como na diminuição do sobrepotencial de ativação da reação. Esta interação entre a espécie modificadora contida no eletrodo e o analito, pode ser de forma química-eletoquímica (CE) ou eletroquímica-química (EC). A redução do potencial de ativação propicia um aumento na seletividade devido à possibilidade de se aplicar potenciais mais baixos, eliminando assim a eletrólise de outras espécies.

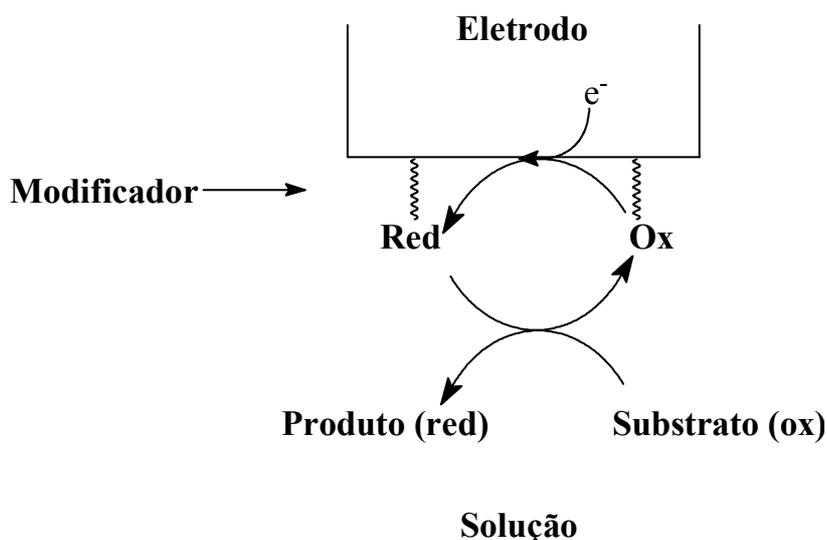


FIGURA 2.4. Representação esquemática do mecanismo de ação do modificador na superfície de um eletrodo com função eletrocatalítica.

2.1.3. Eletrodo de pasta de carbono (EPC)

O eletrodo de pasta de carbono (EPC) é uma mistura de pó de grafite, aglutinante e no caso de um eletrodo de pasta de carbono modificado (EPCM), um modificador específico é incorporado à pasta. O pó de grafite deve ter alta pureza química, baixa capacidade de adsorção de oxigênio e impurezas eletroativas contidas na solução, além de apresentar uma distribuição granulométrica uniforme. Em análises voltamétricas, a faixa de potencial de trabalho de um EPCM é – 1,5 a 0,5 V em soluções alcalinas, – 1,1 a 0,8 V em soluções ácidas, e – 1,5 a 1,5 V em solventes orgânicos¹⁵².

O tipo de aglutinante e suas possíveis influências nas propriedades do eletrodo de pasta de carbono devem também ser estudada. O aglutinante (responsável pela consistência da pasta), deve preencher os interstícios entre as partículas de grafite, deve ser eletroinativo, quimicamente inerte, imiscível com a água (ou outros solventes), possuir baixa volatilidade e não conter impurezas.

Uma das mais importantes vantagens do eletrodo de pasta de carbono sobre todos os outros eletrodos sólidos está no preparo de forma simples e rápida e na possibilidade de renovação da superfície do eletrodo a cada medida, se necessário. Isso é extremamente importante na análise de compostos onde os produtos da reação são adsorvidos na superfície do eletrodo. Outra importante propriedade é a baixa corrente residual, que é menor que nos eletrodos de grafite pirolítico e de carbono vítreo.

Em comparação com outros eletrodos a base de grafite, o eletrodo de pasta de carbono possui uma maior superfície ativa para as mesmas dimensões geométricas e, deste modo, exibe uma maior absorvidade das substâncias em sua superfície, tornando-o mais sensível¹⁵³.

2.1.3.1. Aspectos históricos

ADAMS¹⁵⁴, em 1958, desenvolveu o primeiro eletrodo de pasta de carbono (EPC) na tentativa de preparar um eletrodo gotejante constituído de 1 g de pó de grafite e 7 mL de tribromometano para ser utilizado em regiões de potenciais positivos (anódicos) onde o eletrodo gotejante de mercúrio (EGM) apresenta sérias limitações, devido à oxidação do mercúrio metálico. O “eletrodo gotejante de carbono”

(grafite), não apresentou resultados satisfatórios, devido à alta resistência elétrica causada pelo aglutinante (componente líquido orgânico) utilizado na preparação, porém a construção do EPC foi de extrema importância no desenvolvimento de novos procedimentos eletroanalíticos. ADAMS e colaboradores¹⁵⁵⁻¹⁵⁷ utilizaram o EPC em determinações voltamétricas de diversos analitos em região anódica¹⁵⁵ e catódica¹⁵⁶, como também, diversos estudos do efeito da composição da pasta utilizando vários hidrocarbonetos líquidos como aglutinante e alguns tipos diferentes de pó de grafite¹⁵⁷.

O primeiro EPC modificado (EPCM) foi desenvolvido em 1964 por KUWANA & FRENCH¹⁵⁸. Neste trabalho, foi investigado o comportamento eletroquímico de alguns compostos orgânicos (ferroceno, antraquinona, 5-aminobenzofenona) utilizando o próprio composto como aglutinante na preparação da pasta¹⁵⁹. Comprovou-se então, que a modificação da pasta de carbono com tais espécies, conferia ao eletrodo as características eletroquímicas do material utilizado como modificador. Foi observado também que as correntes de pico dos voltamogramas aumentavam proporcionalmente com o aumento da concentração do modificador na pasta. Estas observações, levaram ao desenvolvimento de diversos estudos eletroquímicos utilizando os EPCMs^{160,161}.

RAVICHANDRAN & BALDWIN¹⁶² estudaram diversos procedimentos para a preparação do EPCM. Nesse estudo, demonstrou-se que a simples mistura dos componentes já é extremamente versátil e que diversos compostos podem ser facilmente introduzidos nos EPCs, por uma simples mistura dos componentes da pasta, sem necessitar de esquemas individuais para cada modificador.

MESARIC & DAHMEN¹⁶³ foram os pioneiros na utilização dos EPCMs em determinações potenciométricas. Utilizou-se nesse trabalho uma pasta composta de pó de grafite, óleo mineral, parafina e como modificador coprecipitados de AgCl e Ag₂S. Esse eletrodo foi utilizado na determinação de cloreto, brometo, iodeto, e também íons prata.

MATUSZEWSKI & TROJANOWICZ¹⁶⁴ desenvolveram em 1988 o primeiro biossensor de pasta de carbono. O biossensor para glicose foi feito incorporando diretamente a enzima *glicose oxidase* (GOD) na pasta de carbono contendo pó de grafite e óleo de silicone. No mesmo ano, WANG & LIN¹⁶⁵ desenvolveram um biossensor utilizando tecido vegetal como fonte enzimática. Diversos outros

biossensores de pasta de carbono utilizando enzimas purificadas, tecidos vegetais, proteínas e células foram propostos^{166,167}.

Desde a concepção do EPC o desenvolvimento de eletrodos modificados tem sido objeto de interesse no campo da eletroanálise para determinação de analitos em amostras de alimentos, ambiental, clínicos, farmacêuticos, industriais e tecnológicos utilizando procedimentos manuais e em análise por injeção em fluxo.

2.2. Complexos metálicos com bases de Schiff

Complexos de metais com bases de Schiff participam de diversas reações, que servem de modelo para estudos de sistemas biológicos e permitem diversas aplicações em análise química, absorção e transporte de oxigênio catalisadores para oxidação e polimerização de compostos orgânicos, vulcanização de borrachas, como abrillantadores em galvanoplastia e fungicidas¹⁶⁸.

Algumas proteínas naturais têm a propriedade de se ligarem reversivelmente ao oxigênio molecular através de centros nos quais se coordenam a metais. Exemplos são a mioglobina e hemoglobina (coordenadas com ferro), hemocianina (cobre) e hemovanadina (vanádio)¹⁶⁹. Esta propriedade também é apresentada por vários compostos de coordenação com estrutura mais simples que as proteínas, os quais têm sido estudados como “compostos modelo”^{170,171}.

Os mais comuns entre estes modelos são os complexos de cobalto(II), dos quais os derivados com N,N'-bis(salicilideno)etilenodiamina [Co(salen)] e seus derivados são os exemplos conhecidos a mais tempo, de complexos capazes de se coordenar ao oxigênio.

A formação de um aduto de oxigênio reversível em relação à pressão parcial de oxigênio atmosférico, pode ser representada pela equação:



a qual ocorre mesmo em estado sólido. Este sistema foi usado na busca de substitutivos para células vermelhas do sangue¹⁷² e mais recentemente como um

dispositivo para medidas de oxigênio¹⁷³. O dispositivo foi construído usando-se compósitos carbono/complexo, os quais respondem à voltagem aplicada.

Além desta característica clássica das bases de Schiff na literatura, tem abordado a aplicação destes complexos como modelo para mimetizar a atividade enzimática¹⁷⁴ e na construção de eletrodo íon-seletivo para a determinação de tiocianato¹⁷⁵ e iodeto^{176,177}. Recentemente, eletrodos convencionais (Pt e carbono vítreo), recobertos com filmes poliméricos de base de Schiff tem sido aplicados como eletrodos para eletrocatalise¹⁷⁸⁻¹⁸¹. Essa aplicação se deve à enorme capacidade dos complexos de metais com base de Schiff de apresentar propriedades eletroquímicas redox, propriedade que se pretende explorar no presente trabalho.

Em um levantamento bibliográfico recente poucos trabalhos foram encontrados na literatura, descrevendo a utilização de complexos contendo base de Schiff na modificação de eletrodos com aplicação na área analítica, utilizando técnicas voltamétricas, os quais se descrevem a seguir.

A preparação e caracterização eletroquímica de eletrodo modificado com filme polimérico do complexo de cobalto com N,N-bis(salicilideno)etano-1,2-diamino (salen) foi descrito por Liu *et al.*¹⁸², para a determinação de ácido ascórbico, por voltametria cíclica. Nesse trabalho, os autores demonstram que o complexo derivado da base de Schiff apresenta propriedades eletrocatalíticas para oxidação do ácido ascórbico. O analito pode ser determinado em uma região linear de 10^{-6} até 10^{-3} mol L⁻¹. O eletrodo foi aplicado para determinação do ácido ascórbico em suco de frutas.

A construção de um eletrodo de pasta de carbono modificado com glioxal-bis(2-hidroxianil) para a determinação de íons prata e mercúrio¹⁸³, é outro trabalho que descreve a utilização analítica das bases de Schiff para pré-concentração de espécies de interesse. Neste caso os autores utilizaram a técnicas de redissolução anódica com detecção por voltametria de pulso diferencial, medindo limites de detecção de 10^{-9} (Hg²⁺) e 10^{-10} mol L⁻¹ (Ag⁺). O método foi aplicado a amostras de urina e os resultados comparados com urina certificada.

2.3. Hexacianoferratos

Os hexacianoferratos metálicos apresentam propriedades interessantes de óxido-redução, que são acompanhadas pela mudança das propriedades de troca iônica e eletrocatalítica, sendo as suas reações eletroquímicas baseadas em duas características:

- a presença de um par redox ativo de íons metálicos como $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$. A FIGURA 2.5 mostra o $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ acoplado a unidade do hexacianoferrato, e o Cu^{2+} estabilizado pela coordenação com o nitrogênio;
- a presença de canais ou cavidades que podem alojar íons metálicos como Na^+ , K^+ , Ag^+ e Fe^{3+} . Esses íons podem difundir através da estrutura cristalina do hexacianoferrato (transferidos de uma solução aquosa), devido à capacidade de redução no centro redox, para manter o equilíbrio de cargas na estrutura. Quando o centro redox é oxidado esses íons são expelidos.

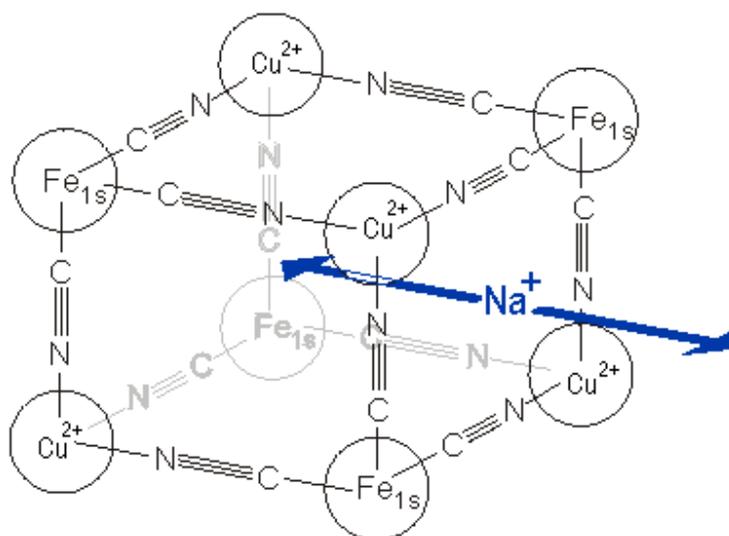


FIGURA 2.5. Estrutura cristalina do hexacianoferrato (III) de cobre (II) em solução contendo íons sódio.

Existe, na literatura, um número grande de trabalhos envolvendo a modificação de eletrodos com hexacianoferratos. A seguir, apresenta-se uma descrição de alguns destes trabalhos.

WANG et. al.¹⁸⁴ construíram um eletrodo de pasta de carbono modificado com *glicose oxidase* e hexacianoferrato de cobre (II) para a determinação de glicose. O mecanismo do eletrodo é baseado nas propriedades eletrocatalíticas do complexo, que permite a redução do peróxido de hidrogênio gerado pela reação enzimática em uma região de potencial próxima a 0 V.

SHANKARAN et. al.¹⁸⁵ também imobilizaram o hexacianoferrato de cobre (II) em um eletrodo de pasta de carbono, para a detecção amperométrica de glutatona. A oxidação eletrocatalítica da glutatona utilizando o EPCM permitiu uma estável resposta linear no intervalo de concentração de glutatona entre $9,0 \times 10^{-5}$ e $9,9 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹.

CASTRO et.al.¹⁸¹ utilizaram um eletrodo de carbono vítreo modificado com um filme de azul da Prússia para a determinação amperométrica de ácido ascórbico em um sistema de análise por injeção em fluxo. Os resultados obtidos com este sensor foram bastante positivos em termos de sensibilidade, estabilidade e reprodutibilidade. A curva analítica para o ácido ascórbico foi linear no intervalo de $5,0 \times 10^{-6}$ e $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ com um limite de detecção de $2,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹.

MORTIMER et. al.¹⁸⁶ modificaram a superfície de um eletrodo de carbono vítreo com hexacianoferrato de níquel(II) expondo a superfície do eletrodo a repetitivos ciclovoltamogramas em meio de uma solução contendo $K_3Fe(CN)_6/NaNO_3/Ni(NO_3)_2$ e utilizaram este sensor para a determinação potenciométrica de íons potássio. O eletrodo modificado exibiu uma resposta linear para o intervalo de concentração entre $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ e $2,0$ mol L⁻¹ com uma resposta nernstiniana entre 45 e 49 mV por década.

2.4. Resinas de troca iônica

A tecnologia de troca iônica tem-se tornado em uma das técnicas mais amplamente empregadas no tratamento de efluentes industriais. Existem muitas razões para o uso desta técnica como, por exemplo, a possibilidade de regeneração da resina e o fácil processo de operação. O maior problema do trocador iônico convencional, é a dificuldade de se alterar a razão da adsorção química. Um possível caminho para

superar isso, é incorporar um trocador iônico em um eletrodo, o que resulta em um eletrodo quimicamente modificado. Por aplicar um potencial estável a este eletrodo, a performance do trocador iônico pode ser convenientemente controlada.

O desenvolvimento de eletrodos modificados com trocadores iônicos varia de acordo com a aplicação. Geralmente, três métodos são aplicados para incorporar trocadores iônicos na superfície do eletrodo: a) resinas de troca iônica são adicionadas a uma mistura de pó de grafite e aglutinante; b) filmes trocadores iônicos são adsorvidos na superfície do eletrodo e c) polímeros com propriedades de troca iônica são gerados eletroquimicamente na superfície do eletrodo. A FIGURA 2.6 ilustra o esquema reacional para obtenção de três tipos de resina de troca iônica.

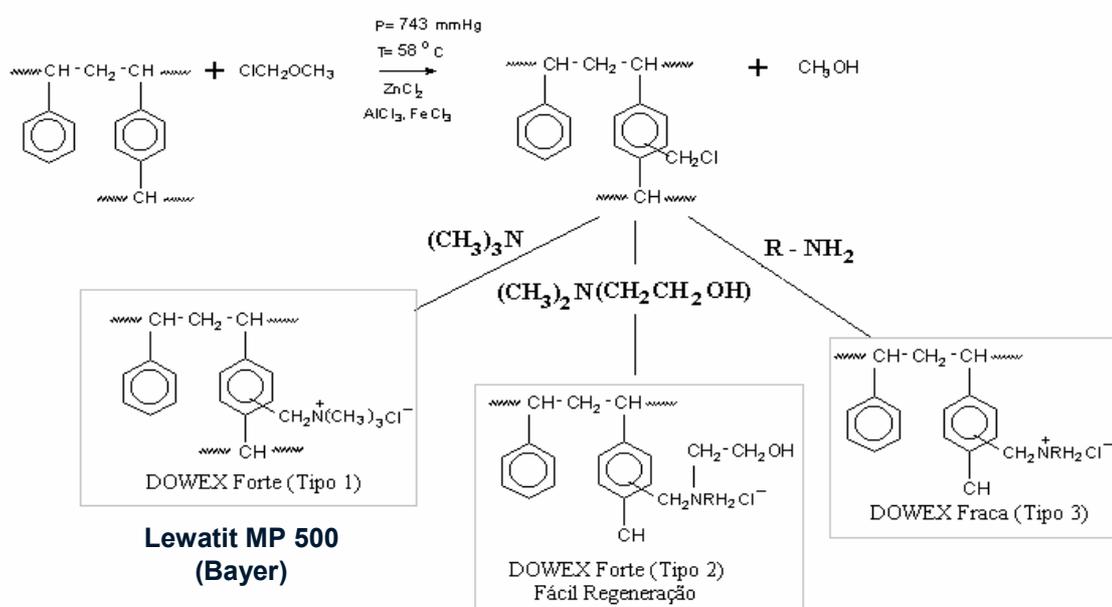


FIGURA 2.6. Esquema da síntese de obtenção de resinas de troca iônica.

Muitos artigos são descritos na literatura utilizando eletrodos modificados com trocadores iônicos^{145,187-202}, porém, os principais objetivos destes trabalhos são de acumular e pré-concentrar diferentes cátions metálicos na superfície do eletrodo.

GAO e colaboradores¹⁸⁹, desenvolveram um eletrodo de pasta de carbono modificado com um trocador catiônico e 1,10 fenantrolina, encontrando um limite de

detecção de $8 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ após 3 minutos de pré-concentração. DIEWALD et al., desenvolveram um EPCM com o trocador aniônico Amberlite LA-2 para determinar Ti(III)^{190} e Hg(II)^{191} após uma etapa de pré-concentração. NEUHOLD et al.¹⁹² utilizaram o mesmo eletrodo para a determinação de nitrato. O nitrato exerce um efeito catalítico na redução e reoxidação em voltametria cíclica e de pulso diferencial, gerando um aumento na corrente de pico, sendo então possível determinar nitrato indiretamente pelo processo redox de Ti(0) a Ti(I) . HELMS e SCHOLZ¹⁹³, construíram um EPCM modificado com trocador iônico para a determinação de Cd(II) , Cu(II) , Pb(II) e Hg(II) em amostras de água, obtendo um limite de detecção de $1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, após 20 h de acumulação. Em um trabalho mais recente, LUPETTI et al.²⁰² desenvolveram um EPCM modificado com íons triiodeto imobilizados em uma resina aniônica (Lewatit M500) que foi utilizado para a determinação de adrenalina em formulações farmacêuticas utilizando a técnica de voltametria de pulso diferencial. Neste procedimento, a adrenalina é quimicamente convertida a adrenocromo por ação dos íons triiodeto imobilizados na superfície do eletrodo. Em seguida, por ação de um potencial aplicado ao eletrodo de trabalho, o adrenocromo formado é reduzido a adrenalina, gerando um sinal de corrente proporcional à concentração de adrenalina na amostra. O procedimento mostrou-se satisfatório para a determinação de adrenalina em formulações farmacêuticas com um limite de detecção de $4 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

2.5. Técnicas eletroquímicas²⁰³

Uma grande variedade de técnicas eletroquímicas tem sido utilizada na eletroanálise. Esses métodos podem ser divididos em duas classes: métodos eletrolíticos, e métodos não eletrolíticos. Os métodos eletrolíticos são baseados em fenômenos físico-químicos que ocorrem na interface entre a superfície do eletrodo e a solução da amostra. Já os métodos não eletrolíticos são baseados nos fenômenos que ocorrem no seio da solução. As técnicas voltamétricas, como a amperometria estão incluídas nos métodos eletrolíticos.

2.5.1. Voltametria cíclica

A voltametria cíclica é uma das técnicas eletroquímicas em que se estuda a relação potencial-corrente em uma célula eletrolítica apropriada, submetida a uma varredura de potencial cíclico (FIGURA 2.7). A célula voltamétrica é constituída por três eletrodos: um eletrodo de trabalho (eletrodo polarizável), um eletrodo de referência (Ag/AgCl ou eletrodo de calomelano) e um eletrodo auxiliar ou contra-eletrodo (fio ou placa de platina). Esses eletrodos se encontram imersos em uma solução da espécie eletroativa de interesse (analito) contendo um excesso de um eletrólito inerte (eletrólito suporte) responsável por diminuir a resistência da solução e garantir o controle difusional das espécies. Esses três eletrodos são conectados a um potenciostato que aplica potenciais num intervalo pré-definido e fornece o sinal de corrente.

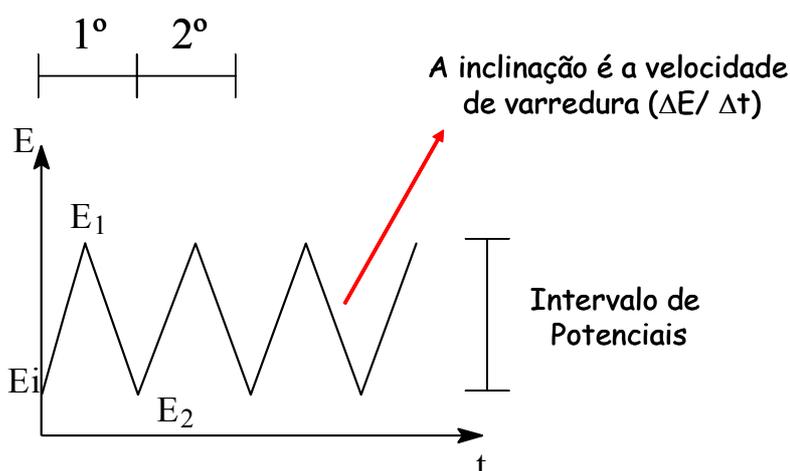


FIGURA 2.7. Esquema da aplicação do potencial vs. tempo para voltametria cíclica.

O sinal de corrente registrado dá origem ao voltamograma que se trata de uma curva de potencial vs. corrente. Um estudo do voltamograma pode fornecer informações do comportamento eletroquímico da espécie em estudo. Para um sistema reversível, temos algumas informações tais como:

- A corrente de pico é proporcional à concentração da espécie oxidada ou reduzida: $I_p \propto C^*$.
- A corrente de pico é proporcional à raiz quadrada da velocidade de varredura: $I_p \propto v^{1/2}$.

- O potencial de pico independe da velocidade de varredura.
- A razão das correntes de pico (I_{pa}/I_{pc}) é igual a 1 unidade.

A variação da velocidade de varredura no perfil do voltamograma é comumente estudada para se obter parâmetros cinéticos e de reversibilidade do sistema eletroquímico, como também determinar o processo pelo qual as espécies chegam à superfície do eletrodo (adsorção e difusão) e na identificação de reações químicas homogêneas acopladas.

Dentro dos métodos voltamétricos de análise, utiliza-se muito a amperometria. Um sensor amperométrico mede uma corrente a um potencial aplicado fixo, isto é, para um único ponto na curva de corrente vs. potencial. Um sensor voltamétrico como descrito acima, registra vários pontos numa região escolhida do perfil potencial vs. corrente. Portanto, um sensor amperométrico nada mais é que um sensor voltamétrico para um potencial fixo.

2.6. Análise por injeção em fluxo (FIA)^{204,205}

2.6.1. Princípios fundamentais

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 reproduzível 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 solução transportadora em fluxo contínuo.

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, a análise por injeção em fluxo teve rápida evolução desde o seu aparecimento em meados dos anos 70. Diversos tipos de tratamentos da amostra, feitos em linha, como difusão gasosa, destilação isotérmica e extração líquido-líquido foram desenvolvidos, propiciando a adaptação da técnica a uma grande variedade de determinações rotineiras usualmente feitas de forma manual.

O processo de análise por injeção em fluxo pode ser dividido em quatro partes: propulsão dos fluídos, injeção da amostra, reação e detecção.

Na maior parte dos casos, a unidade de propulsão é constituída de uma bomba peristáltica. Esta 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 fluidos transportadores.

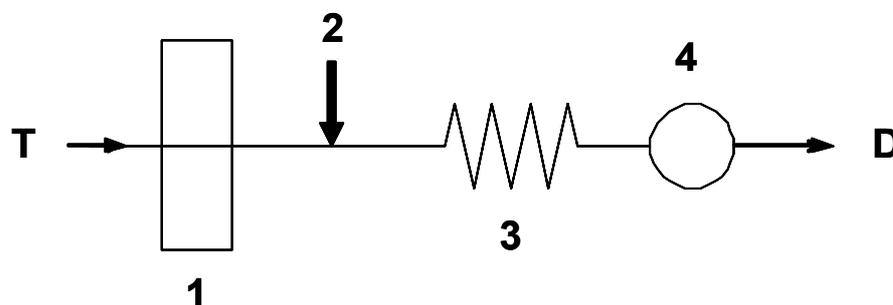


FIGURA 2.8. Representação esquemática de um sistema FIA simples de linha única. Onde: **T** é a solução transportadora; **1**, unidade de propulsão; **2**, unidade de comutação; **3**, unidade de reação; **4**, unidade de detecção e **D**, descarte.

O injetor é um dispositivo fundamental do sistema, serve 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, sendo os mais comuns o de válvula rotatória desenvolvido por RUZICKA e HANSEN²⁰⁴ e o injetor proporcional desenvolvido por pesquisadores do CENA/USP²⁰⁶. Esse injetor é constituído por três peças de acrílico, sendo duas fixas e uma peça central móvel, que

por meio de movimentos para frente e para trás o injetor coleta a amostra e a insere no percurso analítico.

O percurso analítico é onde ocorrem as reações químicas necessárias à detecção das espécies de interesse. O dimensionamento do mesmo 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 especiais 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 ponto importante que 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. Essa característica também pode ser aproveitada para se ajustar o sinal produzido dentro da faixa de operação do instrumento, já que para amostras concentradas pode-se aumentar a vazão dos fluídos e assim aumentar a frequência de amostragem.

Quanto à unidade de detecção, os mais diversos tipos de detectores já foram utilizados em FIA. Dentre eles, os mais empregados são os eletroquímicos e os espectrofotométricos.

CAPÍTULO 3 – PARTE EXPERIMENTAL

CAPÍTULO 3 – PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Instrumentação básica

3.1.1. Balança analítica

Todas as pesagens foram feitas utilizando-se uma balança analítica Mettler, modelo H10 com precisão de $\pm 0,1$ mg.

3.1.2. pHmetro

As medidas de pH das soluções foram feitas utilizando-se um pHmetro Orion modelo EA 940.

3.1.3. Eletrodo de vidro combinado

As medidas de pH foram realizadas utilizando-se um eletrodo de vidro combinado Analion modelo V 620, com um eletrodo de referência interno de Ag/AgCl, contendo uma solução de KCl $3,0 \text{ mol L}^{-1}$.

3.1.4. Medidas voltamétricas e amperométricas

As medidas voltamétricas e amperométricas foram realizadas em uma célula eletroquímica de 20 mL (FIGURA 3.1) contendo o eletrodo de trabalho (EPCM), o eletrodo de referência (Ag/AgCl – KCl $3,0 \text{ mol L}^{-1}$) e o eletrodo auxiliar de platina conectados a um Potenciostato/Galvanostato AUTOLAB PGSTAT-30 (Ecochemie) gerenciado por um programa computacional GPES 4.9.

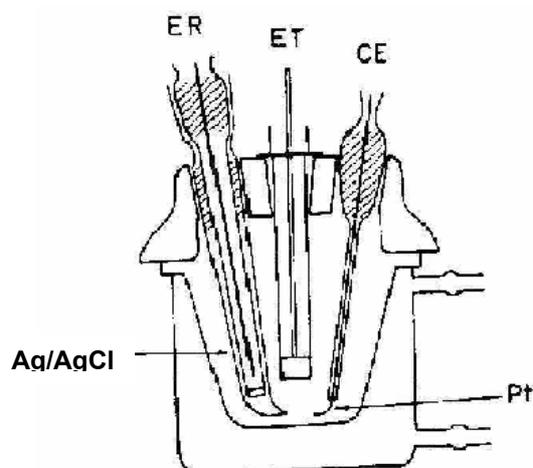


FIGURA 3.1. Representação esquemática de uma célula eletroquímica usada nas medidas voltamétricas. **ER** – eletrodo de referência (Ag/AgCl– KCl 3,0 mol L⁻¹); **ET** – eletrodo de trabalho (EPCM); **CE** – contra-eleto (Pt).

3.2. Construção de um EPCM com [VO-Salen] para a determinação de dipirona em formulações farmacêuticas

3.2.1. Reagentes e soluções

3.2.1.1. Soluções estoque

O eletrólito suporte utilizado em todo experimento foi uma solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0) preparada pela dissolução de 3,7275 g de KCl (Dinâmica) em 500 mL de água desionizada. A solução estoque de dipirona 10 mmol L⁻¹ foi preparada diariamente dissolvendo-se 0,1757g de dipirona (Boheringer Ingelheim) em 50 mL de KCl 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0).

3.2.1.2. Síntese do [VO-Salen]

O complexo de base de Schiff foi fornecido pelo Grupo de Cinética e Luminescência do DQ-UFSCar, liderado pelo Prof. Dr. Edward R. Dockal, que já possuía o mesmo sintetizado e caracterizado.

O ligante Salen foi preparado de acordo com procedimento descrito na literatura²⁰⁷ e foi utilizado sem posterior purificação. O complexo [VO-Salen] (N,N-etilenobis(salicilidenoaminato de oxovanádio (IV)) foi preparado a partir do sulfato de oxovanádio (IV) e do ligante Salen, empregando o procedimento descrito por ZAMIAN et. al.²⁰⁸. Após a síntese, o complexo foi purificado utilizando extração Soxhlet em meio de MeCN. Não houve necessidade de se excluir o oxigênio do sistema reacional uma vez que o complexo é estável neste meio. O complexo purificado (cristais verdes) foram secos em temperatura ambiente por 72 h.

3.2.1.3. Construção do eletrodo de trabalho

Foram homogeneizados 0,250 g (50% m/m) de pó de grafite (1-2 μm de tamanho de partícula - Aldrich) junto com 0,125 g do modificador (25% m/m) e 0,125 g (25% m/m) de óleo mineral (Aldrich) em um béquer contendo aproximadamente 20 mL de hexano. A mistura foi deixada sob agitação magnética até a evaporação total do solvente. Cerca de 100 mg da pasta obtida foi inserida em uma seringa de injeção para insulina (90 mm de altura e diâmetro interno da ponta de aproximadamente 2,6 mm) equipada com uma haste metálica que serve como contato elétrico externo.

3.2.1.4. Preparo e análise das amostras

Amostras contendo dipirona foram adquiridas no comércio e analisadas pelo método proposto. Seis formulações farmacêuticas foram analisadas: Novalgina comprimidos (Hoechst Marion Roussel Ltda.), Cefaliv comprimidos (Ache Laboratórios Farmacêuticos S.A.), Dorflex comprimidos (Aventis Pharma Ltda), Anador gotas (Boehringer Ingelheim do Brasil), Magnopyrol gotas (FARMASA – Laboratório Americano de Farmacoterapia S.A.) e Novalgina gotas (Hoechst Marion Roussel Ltda.).

Comprimidos: Cinco comprimidos foram triturados até a obtenção de um pó fino e massas exatamente determinadas em balança analítica, foram transferidas para balões volumétricos de 50 mL e o volume completado com uma solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0). Eventuais excipientes insolúveis (silicato de sódio) contidos na amostra foram removidos por filtração simples por gravidade e o filtrado transferido para balões volumétricos de 250 mL, sendo seus volumes completados com água desionizada.

Solução oral: Alíquotas de 176 µL das soluções foram transferidas para balões volumétricos de 50 mL com o auxílio de uma micropipeta e diluídas para o volume com uma solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0).

3.2.1.5. Método de referência

A Farmacopéia Brasileira²⁰⁹ preconiza a iodimetria para a determinação quantitativa de dipirona sódica. O método consiste em solubilizar a amostra com água desionizada, acidificá-la com HCl 0,02 mol L⁻¹ e titular como uma solução padronizada de iodo 0,05 mol L⁻¹ utilizando como indicador uma solução de amido 1% (m/v) adicionada próximo ao ponto final. A titulação iodimétrica de dipirona esta baseada na oxidação do grupo metanossulfônico a sulfato em meio ácido, de acordo com a reação:



Cada 1,0 mL da solução de iodo 0,05 mol L⁻¹ corresponde a 16,67 mg de dipirona sódica. Desse modo, pipetou-se 500 µL de cada amostra comercial, tendo-se então uma quantidade teórica de 250 mg de dipirona e titulou-se essa alíquota de acordo como o procedimento supracitado. Para amostras sólidas, pesou-se uma quantidade contendo teoricamente 250 mg de dipirona e titulou-se da mesma forma.

3.3. Construção de um EPCM com [VO-Salen] para a determinação de ranitidina em formulações farmacêuticas

3.3.1. Reagentes e soluções

3.3.1.1. Soluções estoque

O eletrólito suporte utilizado em todo experimento foi uma solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,5) preparada pela dissolução de 3,7275 g de KCl (Dinâmica) em 500 mL de água desionizada. A solução estoque de ranitidina 1,0 x 10⁻² mol L⁻¹ foi preparada diariamente dissolvendo-se 0,1754 g de ranitidina (Farmácia Magistral, São Carlos - SP) em 50 mL de KCl 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,5).

3.3.1.2. Síntese do [VO-Salen]

O complexo [VO-Salen] foi fornecido pelo Grupo de Cinética e Luminescência do DQ-UFSCar, liderado pelo Prof. Dr. Edward R. Dockal, responsável pela síntese e caracterização. Uma descrição mais detalhada de sua síntese já foi reportada em 3.2.1.2.

3.3.1.3. Construção do eletrodo de trabalho

Foram homogeneizados 0,300 g (60% m/m) de pó de grafite (1-2 μm de tamanho de partícula - Aldrich) junto com 0,100 g do modificador (20% m/m) e 0,100 g (20% m/m) de óleo mineral (Aldrich) em um béquer contendo aproximadamente 20 mL de hexano. A mistura foi deixada sob agitação magnética até a total evaporação do solvente. Ceca de 100 mg da pasta obtida foi inserida em uma seringa de injeção para insulina (90 mm de altura e diâmetro interno da ponta de aproximadamente 2,6 mm) equipada com uma haste metálica que serve como contato elétrico externo.

3.2.1.4. Preparo e análise das amostras

Amostras contendo ranitidina foram adquiridas no comércio e analisadas pelo método proposto. Quatro formulações farmacêuticas foram analisadas: Genérico comprimidos (Hexal), Ulcerit comprimidos (Hexal), Label comprimidos (Aché) e Label solução oral (Aché).

Comprimidos: Cinco comprimidos foram triturados até a obtenção de um pó fino e massas exatamente determinadas em balança analítica, foram transferidas para balões volumétricos de 10 mL e o volume completado com uma solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,5). Eventuais excipientes insolúveis (silicato de sódio) contidos na amostra foram removidos por filtração simples por gravidade.

Solução Oral: Uma alíquota de 50 µL da solução estoque foi transferida com o auxílio de uma micropipeta diretamente para a célula eletroquímica contendo 5,0 mL de uma solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,5).

3.3.1.5. Método de referência

O procedimento adotado foi o descrito pela Farmacopéia Brasileira, utilizando espectrofotometria de absorção no ultravioleta²⁰⁹. Para amostras sólidas (comprimidos) pesaram-se e pulverizaram-se 5 comprimidos e transferiram-se para um balão volumétrico de 250 mL uma massa equivalente a 0,125 mg de ranitidina, completando-se o volume com água desionizada. Filtrou-se e diluiu-se sucessivamente até uma concentração de $3,6 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ utilizando o mesmo solvente. Preparou-se uma solução padrão de ranitidina na mesma concentração e mediu-se a absorbância em 314 nm, utilizando água para ajuste do branco. Calculou-se o teor de ranitidina nos comprimidos comparando-se os resultados obtidos com as leituras da solução padrão.

3.4. Construção de um EPCM com Cu₃[Fe(CN)₆]₂ para a determinação de dipirona em formulações farmacêuticas

3.4.1. Reagentes e soluções

3.4.1.1. Soluções estoque

O eletrólito suporte utilizado em todos os experimentos foi uma solução de acetato de sódio $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ preparada pela dissolução de 3,40 g deste sal (J.T. Baker) em 500 mL de água desionizada. A esta solução foram adicionados 1,46 g de NaCl (Mallinckrodt) obtendo-se uma concentração final de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ com relação ao metal alcalino. Ajustes de pH foram realizados por adições de soluções de HCl (Synth) e NaOH (Dinâmica) concentrados. A solução estoque de dipirona 10 mmol L^{-1} foi preparada diariamente dissolvendo-se 0,1757g de dipirona (Boheringer Ingelheim) em 50 mL da solução supracitada.

3.4.1.2. Síntese do $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$

O complexo $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$ foi preparado de acordo com o procedimento previamente descrito na literatura²¹⁰. Este composto foi obtido por simples precipitação pela mistura de uma solução de hexacianoferrato (III) de potássio (Ecibra) $0,125 \text{ mol L}^{-1}$ e uma solução de sulfato de cobre (II) pentahidratado (Mallinckodt) $0,375 \text{ mol L}^{-1}$ de modo a estabelecer uma relação Cu/Fe igual a 3. O precipitado obtido foi filtrado a vácuo, lavado com água desionizada por diversas vezes e seco em dessecador em temperatura ambiente por quatro dias.

3.4.1.3. Construção do eletrodo de trabalho

Foram homogeneizados 0,275 g (55% m/m) de pó de grafite (1-2 μm de tamanho de partícula - Aldrich) junto com 0,100 g do modificador (20% m/m) e 0,125 g (25% m/m) de óleo mineral (Aldrich) em um béquer contendo aproximadamente 20 mL de hexano. A mistura foi deixada sob agitação magnética até a total evaporação do solvente. A pasta obtida foi inserida em uma seringa de injeção para insulina (90 mm de altura e diâmetro interno da ponta de aproximadamente 2,6 mm) equipada com uma haste metálica que serve como contato elétrico externo.

3.4.1.4. Preparo e análise das amostras

Três amostras contendo dipirona foram adquiridas no comércio e analisadas pelo método proposto: Anador gotas (Boehringer Ingelheim do Brasil), Magnopyrol gotas (FARMASA – Laboratório Americano de Farmacoterapia S.A.) e Novalgina gotas (Hoechst Marion Roussel Ltda.).

Alíquotas de 176 μL das soluções foram transferidas para balões volumétricos de 25 mL com o auxílio de uma micropipeta e diluídas para o volume com solução de acetato de sódio $0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

3.4.1.5. Método de referência

O método de referência adotado foi o recomendado pela Farmacopéia Brasileira, já descrito em 3.2.1.5.

3.5. Construção de um EPCM com $\text{R-}[-\phi\text{-CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3]_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ para a determinação de paracetamol em formulações farmacêuticas

3.5.1. Reagentes e soluções

3.5.1.1. Soluções estoque

Uma solução de ácido perclórico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, preparada pela diluição de 4,28 mL do ácido concentrado (Carlo Erba) e o volume completado com água desionizada em um balão volumétrico de 500 mL, foi utilizada como eletrólito suporte em todos os experimentos. A solução estoque de paracetamol 10 mmol L^{-1} foi preparada diariamente pela dissolução de 0,0756 g do fármaco (Sigma) em 50 mL da solução de HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

3.5.1.2. Obtenção da $\text{R-}[-\phi\text{-CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3]_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$

Um volume de 10 mL da resina de troca aniônica (Lewatit M500 – Bayer) foi transferido para uma coluna de vidro de 25 mL contendo vidro sinterizado na parte inferior. Em seguida, percolaram-se 100 mL de solução de $K_3Fe(CN)_6$ (Ecibra) $0,3 \text{ mol L}^{-1}$, afim de substituir os íons cloreto da resina pelo íons hexacianoferrato(III). Após a troca desses íons, lavou-se a coluna com água deionizada em excesso, até retirada completa dos íons hexacianoferrato não imobilizados. A resina carregada com íons hexacianoferrato(III) foi seca em estufa a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 1 h e em seguida pulverizada afim de se obterem as menores partículas, sendo estas incorporadas ao eletrodo de trabalho.

3.5.1.3. Construção do eletrodo de trabalho

O eletrodo de trabalho foi preparado pela mistura de 0,325 g (65% m/m) de pó de grafite ($1\text{-}2 \text{ }\mu\text{m}$ de tamanho de partícula - Aldrich), 0,075 g de parafina e 0,100 g da resina de troca iônica modificada com íons hexacianoferrato (III).

Primeiramente homogeneizou-se o pó de grafite com o modificador em um almofariz por aproximadamente 30 min. Em seguida, a mistura resultante foi acondicionada em um béquer de 10 mL contendo parafina fundida. Esse béquer foi mantido a uma temperatura de $60\text{-}65^\circ\text{C}$, sendo então a mistura dos três componentes, homogeneizada por mais 5 minutos e finalmente inserida em uma seringa de injeção para insulina (90 mm de altura e diâmetro interno da ponta de aproximadamente 2,6 mm). No eletrodo empregado como branco, a resina contendo o hexacianoferrato (III) ($R\text{-}[\text{-}\phi\text{-CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3][\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}]$) foi substituída por uma resina contendo íons cloreto ($R\text{-}[\text{-}\phi\text{-CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3][\text{Cl}^-]$).

3.5.1.4. Preparo e análise das amostras

Três amostras contendo paracetamol foram adquiridas no comércio e analisadas pelo método proposto: Genérico (Medley), Resfenol (Hexal) e Resprin (Johnson & Johnson).

Alíquotas de 200 μL das soluções foram transferidas para balões volumétricos de 25 mL com o auxílio de uma micropipeta e diluídas para o volume com solução de HClO_4 0,1 mol L^{-1} .

3.5.1.5. Método de referência

O procedimento espectrofotométrico descrito na Farmacopéia Brasileira²⁰⁹ foi aplicado como método de comparação ao procedimento proposto. As amostras de paracetamol analisadas foram monitoradas espectrofotometricamente em 244 nm, usando água como branco. Massas acuradamente pesadas foram diluídas em NaOH 0,01 mol L^{-1} e sua absorvância foi obtida e comparada com uma curva analítica preparada com soluções padrões de paracetamol da mesma forma que as amostras.

3.6. Determinação amperométrica de captopril em sistema FIA utilizando um eletrodo de pasta de carbono (EPC)

3.6.1. Instrumentação básica

3.6.1.1. Bomba peristáltica

Para a propulsão das soluções de amostras e reagentes, utilizou-se uma bomba peristáltica ISMATEC (Zurich, Suíça) com 12 canais, modelo 7628-50 previamente calibrada.

3.6.1.2. Tubos e conexões

Foram empregados tubos e conexões de polietileno com diâmetro interno de 0,8 mm para confecção das bobinas reacionais, alças de amostragem e linhas de condução de soluções de referência, amostras e reagentes. Os tubos de propulsão utilizados foram de Tygon[®] de diferentes diâmetros internos.

3.6.1.3. Injetor comutador

As amostras e soluções de referência foram introduzidas no sistema em fluxo utilizando-se um duplo injetor comutador manual 2-3-2 construído em acrílico.

3.6.1.4. Registrador

Para registros dos dados obtidos utilizou-se um registrador x-t, de dois canais Cole Parmer (Niles, IL, USA) modelo 1202.0000.

3.6.1.5. Medidas voltamétricas

No sistema FIA com detecção amperométrica, utilizou-se uma célula eletroquímica construída em resina de poliuretano derivada de óleos vegetais com um arranjo de três eletrodos (FIGURA 3.2).

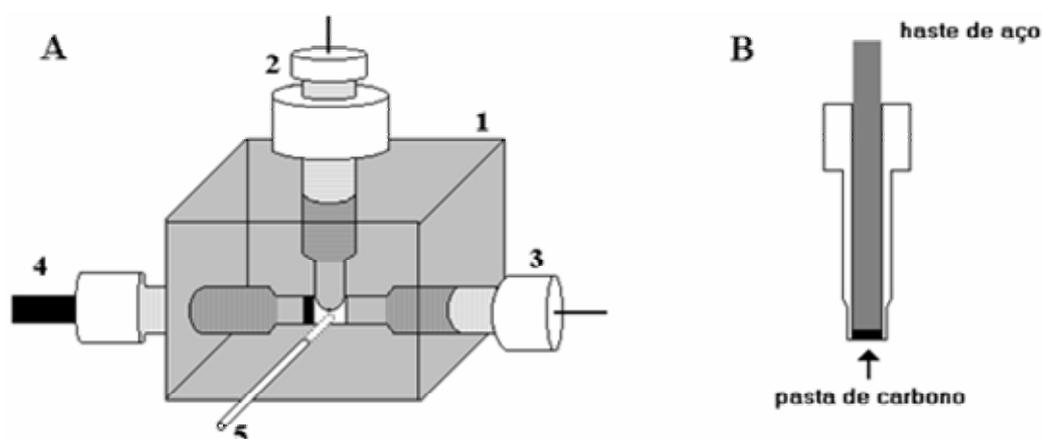


FIGURA 3.2. Diagrama esquemático da célula eletroquímica usada nas medidas amperométricas em fluxo. **A:** 1 – bloco de resina poliuretana; 2 – eletrodo de referência ($\text{Ag}/\text{AgCl} - \text{KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$); 3 – eletrodo de platina; 4 – eletrodo de pasta de carbono; 5 – tubo de polietileno (fluxo). **B:** eletrodo de pasta de carbono utilizado na célula.

O eletrodo de trabalho foi um eletrodo de pasta de carbono (EPC), o eletrodo de referência de Ag/AgCl e um eletrodo auxiliar de platina.

3.6.2. Reagentes e soluções

3.6.2.1. Soluções estoque

Para as medidas por voltametria cíclica, utilizou-se tampão acetato preparado em diferentes valores de pH. No sistema FIA com detecção amperométrica, utilizou-se uma solução de tampão acetato pH = 3,6 como eletrólito suporte preparada pela dissolução de 6,80 g do sal em 500 mL de água desionizada (solução 0,10 mol L⁻¹). Para cada valor de pH, as soluções foram ajustadas com adição de HCl ou NaOH concentrado (6,0 mol L⁻¹), formando desta forma a solução tamponante.

Soluções estoque de captopril 10 mmol L⁻¹ foram preparadas diariamente dissolvendo-se 0,1086 g de captopril (Farmácia Amazon, São Carlos - SP) em 50 mL de tampão acetato pH = 3,6 para as medidas em voltametria cíclica e no sistema FIA.

3.6.2.2. Preparação do eletrodo de pasta de carbono

O eletrodo de pasta de carbono foi preparado misturando-se cuidadosamente 75% (m/m) de pó de grafite (1-2 μm de tamanho de partícula - Aldrich) e 25% (m/m) de óleo mineral (Aldrich). Os componentes foram misturados por agitação magnética em um béquer (50 mL) contendo 20 mL de hexano. A pasta final foi obtida com a evaporação do solvente. A pasta de carbono foi inserida em um eletrodo consistindo em um tubo cilíndrico de plástico (d. e. 7,0 mm, d. i. 4,0 mm) e de uma haste de aço inoxidável que serve como um contato elétrico externo.

3.6.2.3. Preparo e análise das amostras

Três amostras comerciais contendo captopril como princípio ativo foram compradas em farmácias da cidade de São Carlos e seu teor verificado pelos métodos proposto e da Farmacopéia Brasileira: Genérico comprimidos (Medley), Captotec comprimidos (Hexal) e Capoten comprimidos (Bristol-Myers Squibb).

Cinco comprimidos foram triturados até a obtenção de um pó fino e massas exatamente determinadas em balança analítica, foram transferidas para balões volumétricos de 50 mL e o volume completado com uma solução de tampão acetato pH = 3,6. Eventuais excipientes insolúveis (silicato de sódio) contidos na amostra foram removidos por filtração simples por gravidade.

3.6.2.4. Método de referência

O método oficialmente adotado pela Farmacopéia Brasileira²⁰⁹ para a quantificação de captopril é a titulação iodimétrica com uma solução padronizada de iodo $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando como indicador uma solução de amido 1% (m/v) adicionada próximo ao ponto final.

Cada 1,0 mL da solução de iodo $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ corresponde a 10,31 mg de captopril. Desse modo, pesou-se uma quantidade contendo teoricamente 250 mg de captopril e titulou-se essa alíquota de acordo como o procedimento supracitado.

CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Construção de um EPCM com [VO-Salen] para a determinação de dipirona em formulações farmacêuticas

4.1.1. Comportamento da dipirona em voltametria cíclica utilizando um EPC não modificado

A oxidação da dipirona foi estudada inicialmente empregando voltametria cíclica para elucidar o seu comportamento eletroquímico. A oxidação eletroquímica da dipirona é representada por picos irreversíveis a +0,33 V (pico 1), +0,57 V (pico 2) e +1,0 V (pico 3) vs. Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) em solução de acetato de sódio 0,10 mol L⁻¹ (pH 7,3) como mostrado na FIGURA 4.1.

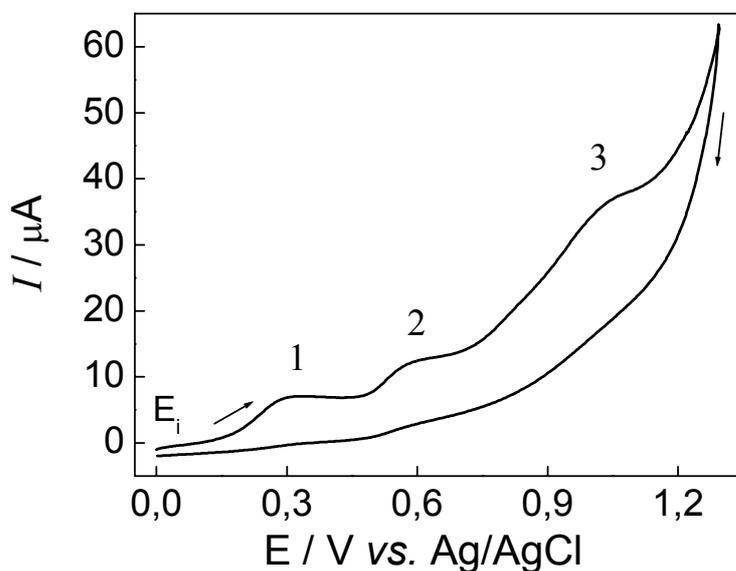


FIGURA 4.1. Voltamograma cíclico para dipirona $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em solução de acetato de sódio (pH = 7,3) utilizando um eletrodo de pasta de carbono (EPC). Velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} ; intervalo de potencial de 0,0 a 1,3 V.

A dependência da corrente de pico anódico com a raiz quadrada da velocidade de varredura de potenciais (intervalo de 1 a 100 mV s^{-1}) também foi investigada (FIGURA 4.2). A existência de uma linearidade entre as correntes de pico anódico referentes ao primeiro processo de oxidação ($E_{\text{pa}} = 330 \text{ mV vs. Ag/AgCl}$) e a raiz quadrada da velocidade de varredura indica que o processo é difusional para a oxidação da dipirona na superfície do eletrodo de pasta de carbono.

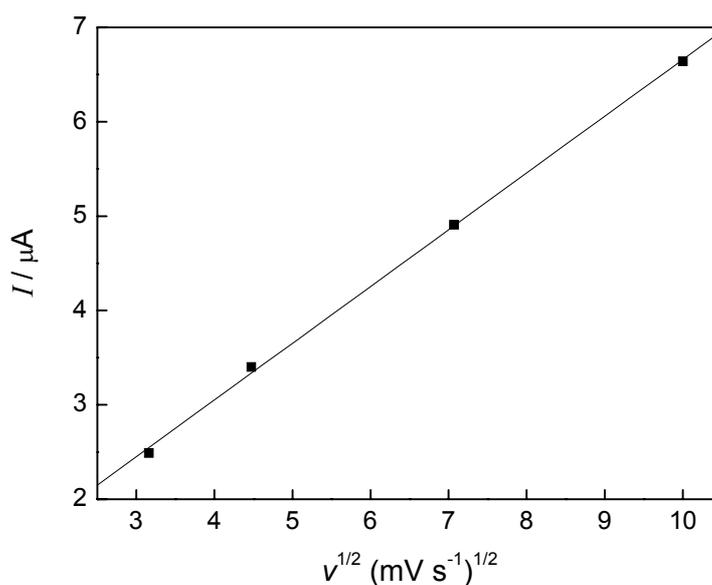


FIGURA 4.2. Efeito da raiz quadrada da velocidade de varredura no processo difusional das espécies na superfície do eletrodo referente ao primeiro processo de oxidação ($E_{\text{pa}} = 330 \text{ mV}$). Solução de dipirona $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em acetato de sódio $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,3$).

O efeito da acidez do meio no intervalo de pH de 3,0 a 8,0 foi também investigado na oxidação da dipirona ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) e são apresentados na FIGURA 4.3. Como pode ser observado, variando-se o pH de 3,2 a 7,3 ocorre uma diminuição do potencial de pico anódico para o primeiro processo de oxidação que se torna praticamente constante acima de pH 7,3.

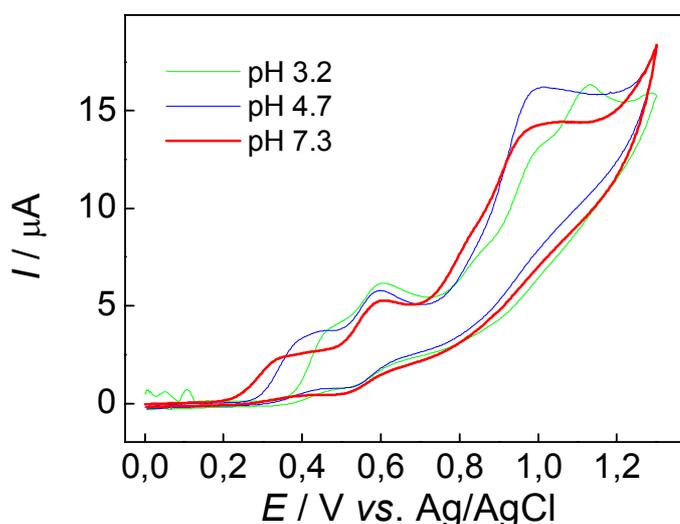


FIGURA 4.3. Voltamogramas cíclicos de dipirona $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em acetato de sódio em diferentes valores de pH utilizando um EPC. Velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} .

4.1.2. Propriedades eletroquímicas do EPC modificado com [VO-Salen]

O comportamento eletroquímico do EPCM foi investigado utilizando como eletrólito suporte uma solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Em tampão fosfato, a resposta voltamétrica do EPCM no primeiro ciclo voltamograma se mostrou instável não sendo observado processos redox. Isso se deve ao fato de que o cátion vanadil(IV) interage fortemente com íons fosfato na superfície do eletrodo, semelhante a uma interação enzimática se tornando eletroinativo. Essa interação causa uma inibição em muitos sistemas enzimáticos metabolizados por íons fosfato^{211,212}. A FIGURA 4.4 apresenta um típico ciclo voltamograma para o EPC modificado com [VO-Salen]. O processo redox observado apresenta dois picos a $+0,66 \text{ V}$ (Epa) e $+0,23 \text{ V}$ (Epc) que se mantêm estáveis após o terceiro ciclo. Esses processos podem ser atribuídos a um sistema quasi-reversível²¹³ pela transferência de um elétron entre o par redox $\text{VO}^{3+}/\text{VO}^{2+}$.

Quando o EPCM foi submetido a uma varredura de potenciais entre $-0,40 \text{ V}$ e $1,0 \text{ V}$ (vs. ECS) observou-se um aumento gradativo das correntes de pico em

função do número de ciclos. Esse comportamento sugere a formação de um filme polimérico na superfície do eletrodo. De acordo com dados da literatura^{214,215}, em potenciais mais extremos pode ocorrer a polimerização de bases de Schiff produzindo poliaminas ou diaminas. Esse processo é dependente do eletrólito suporte e da natureza do íon metálico central, sendo neste último caso um mecanismo mais complexo^{216,217}.

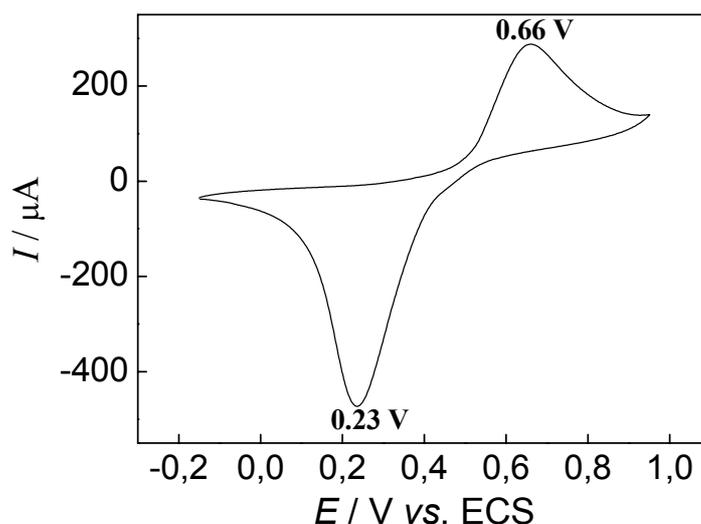


FIGURA 4.4. Comportamento eletroquímico do EPC modificado com [VO-Salen] em meio de KCl 0,1 mol L⁻¹, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$.

GOLDSBY et. al.²¹⁸ estudaram o comportamento eletroquímico do complexo Ni(II)-*bis*(salicilaldimina) utilizando voltametria cíclica e observaram que este complexo em meio de solventes doadores de elétrons é oxidado reversivelmente formando um polímero na superfície do eletrodo. Por outro lado, observou-se que a polimerização do [VO-Salen] ocorre por redução. Este fato deve ser considerado na escolha do intervalo de potencial para o desenvolvimento de procedimentos analíticos a fim de se obter uma resposta reprodutiva em função dos ciclovoltagemogramas obtidos.

Com base em outros trabalhos desenvolvidos com o mesmo sensor²¹⁹⁻²²¹ submeteu-se o EPCM a um pré-tratamento de 35 ciclos a uma velocidade de 25 mV s^{-1} e um intervalo de potenciais entre -0,15 e 0,95 V em meio de KCl 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,0),

obtendo-se assim correntes estáveis. Estas mesmas condições foram mantidas para a seqüência do trabalho.

4.1.3. Comportamento eletroquímico do EPCM com [VO-Salen] em presença de dipirona utilizando voltametria cíclica

Após verificar o comportamento redox do EPCM, o mesmo eletrodo foi submetido a uma voltametria cíclica em eletrólito suporte contendo dipirona. A FIGURA 4.5 representa os voltamogramas obtidos para o EPCM em meio de KCl 0,1 mol L⁻¹ na ausência (1) e presença (2) de 9,1 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ de dipirona.

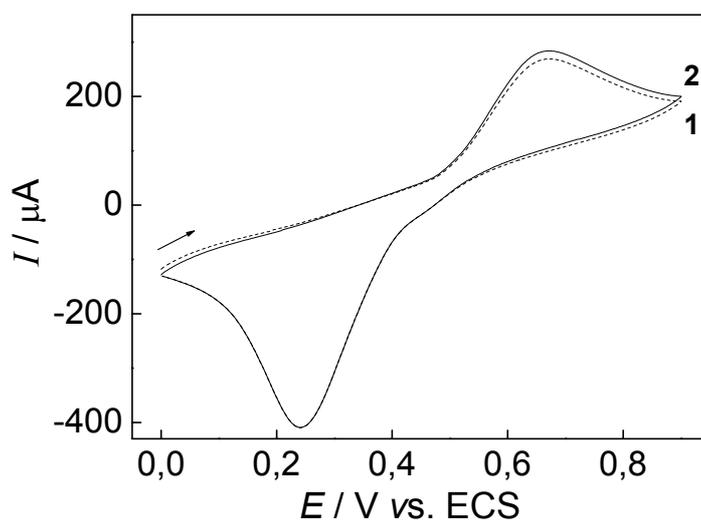


FIGURA 4.5. Voltamogramas cíclicos para a eletroxidação de dipirona empregando o EPCM com [VO-Salen] em uma solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ (pH = 5,5) na ausência (1) e presença (2) de dipirona 9,1 x 10⁻⁵ mol L⁻¹, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$.

Observa-se que existe um incremento no valor da corrente de pico anódica ($\Delta I \sim 30 \text{ mV}$), na presença de dipirona em solução, o que sugere uma influência no processo de oxidação da dipirona pelo cátion metálico central do complexo. A proposta de funcionamento do eletrodo é que existe uma reação entre o eletrodo e o analito semelhante a um mecanismo EC' (eletroquímico- químico) que pode ser descrito

em duas etapas, uma eletroquímica e outra química. Inicialmente, ocorre um processo de oxidação eletroquímica do VO^{2+} produzindo VO^{3+} na superfície do eletrodo, seguido pela transferência de elétrons da dipirona para o complexo e a regeneração do VO^{2+} , como mostrado na FIGURA 4.6. A corrente de pico anódica obtida em +0,66 V é proporcional a concentração de dipirona em solução.

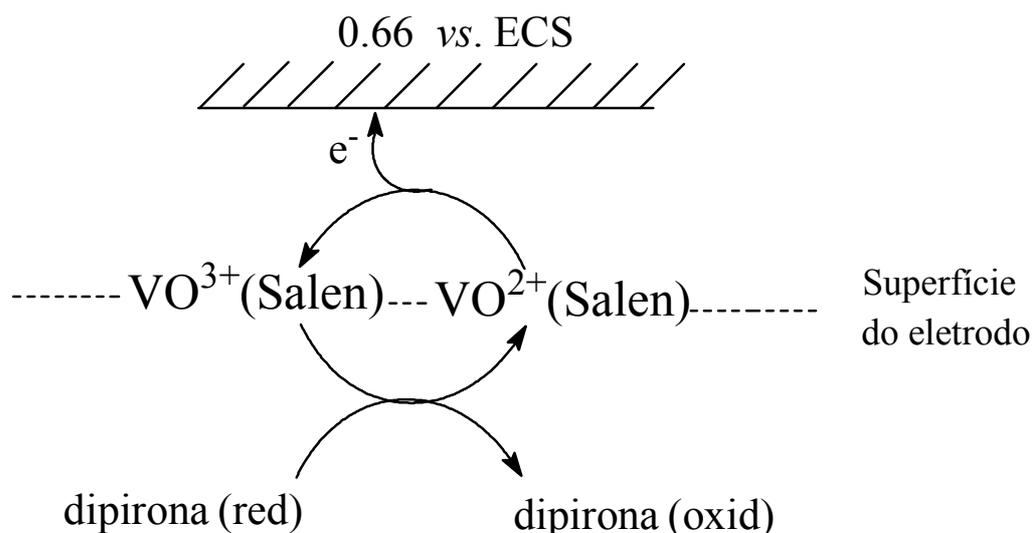


FIGURA 4.6. Mecanismo proposto para o funcionamento do EPCM-[VO-Salen] para a determinação de dipirona.

Em um trabalho recente TEIXEIRA et. al.²²² estudaram o comportamento eletroquímico da dipirona em diferentes valores de pH e compararam com a aminoantipirina. A dipirona e a aminoantipirina apresentam estrutura similar diferindo-se apenas pelo substituinte no átomo de carbono na posição 4 do anel pirazolônico. A dipirona apresenta como substituinte um grupo metilamino-N-metano sulfonato enquanto que a aminoantipirina tem como substituinte um grupo amino. Com base nos resultados deste trabalho, pode-se concluir que o primeiro pico de oxidação da dipirona está relacionado com o grupo metilamino-N-metano sulfonato, devendo este grupo participar da reação com o complexo [VO-Salen]. A variação do potencial de pico anódico com o pH exibe uma relação linear com inclinação de $28,8 \text{ mV pH}^{-1}$ o que

indica um mecanismo que envolve a transferência de dois elétrons e um próton (FIGURA 4.7)

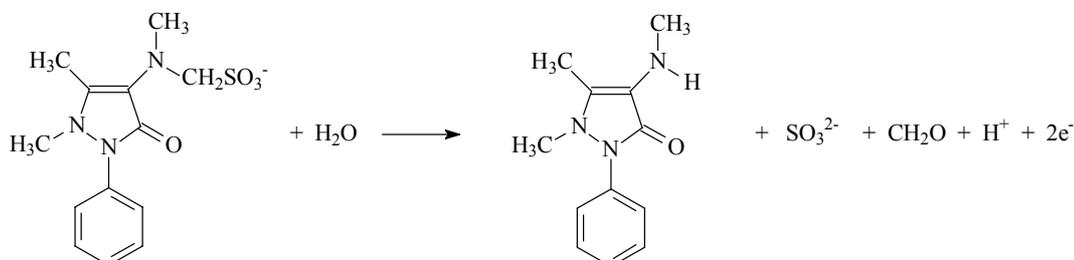


FIGURA 4.7. Primeira etapa da reação de oxidação da dipirona.

4.1.4. Efeito da velocidade de varredura

O efeito da velocidade de varredura de potenciais sobre a resposta voltamétrica do EPCM no intervalo de 5 a 200 mV s^{-1} foi investigada para uma solução $3,3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de dipirona (FIGURA 4.8).

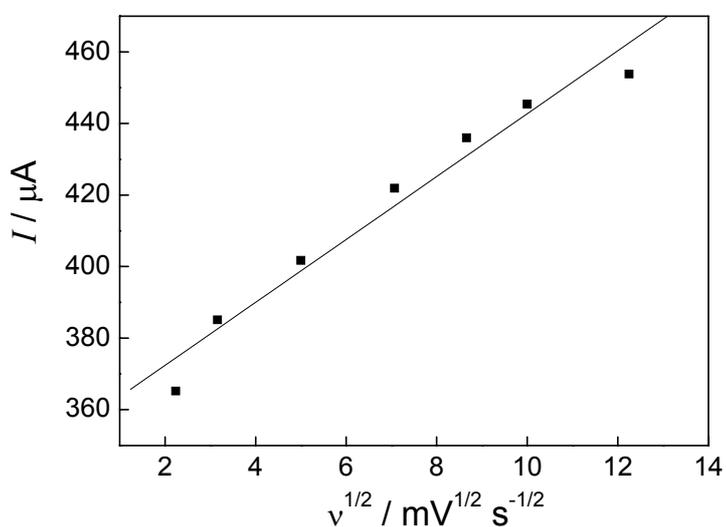


FIGURA 4.8. Variação da resposta voltamétrica do EPCM com [VO-Salen] com a velocidade de varredura na presença de $9,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de dipirona em meio de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

As correntes de pico anódico não variaram linearmente com a raiz quadrada da velocidade de varredura, sugerindo que a oxidação da dipirona é realizada por um mecanismo misto controlado pela adsorção e pela difusão das espécies até a superfície do eletrodo. Esta suspeita pode ser ainda evidenciada se observamos a equação que descreve essa dependência: $I_{pa} (\mu A) = 22,1 + 158,8 v^{1/2} (mV^{1/2} s^{-1/2})$, a reta não intercepta o eixo Y na posição zero. Isso indica que o processo de transferência de elétrons não ocorre somente na interface entre o eletrodo e a solução, sugerindo que etapas de adsorção e/ou de interação com o sítio ativo podem estar envolvidas.

Além disso, para velocidades maiores que $150 mV s^{-1}$ ocorre um pequeno decréscimo na corrente de pico anódico indicando a existência de uma limitação cinética no processo de transferência de elétrons entre o VO^{3+} e a dipirona, para altas velocidades de varredura de potencial. A partir destes resultados, escolheu-se fixar uma velocidade de $25 mV s^{-1}$ devido ao seu melhor perfil voltamétrico.

4.1.5. Efeito da acidez do meio

Outro parâmetro importante estudado foi a influência do pH na resposta voltamétrica do EPCM, empregando voltametria linear em meio de KCl $0,1 mol L^{-1}$ contendo $9,1 \times 10^{-5} mol L^{-1}$ de dipirona no intervalo de pH entre 1,0 e 10.

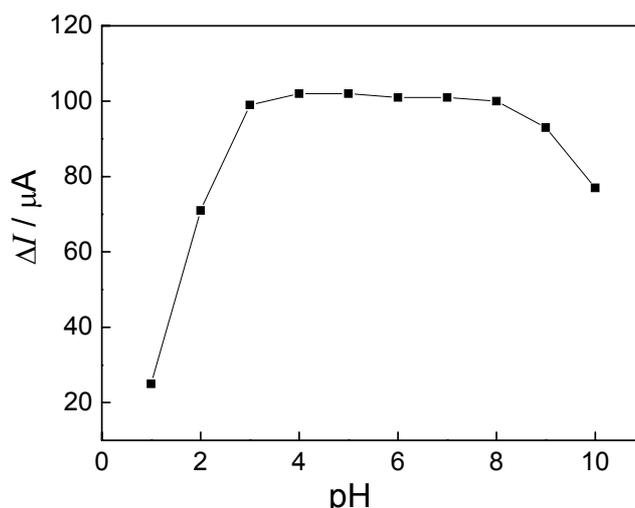


FIGURA 4.9. Efeito do pH sobre a resposta voltamétrica do EPCM com [VO-Salen] na presença de $9,1 \times 10^{-5} mol L^{-1}$ de dipirona em meio de KCl $0,1 mol L^{-1}$ e $v = 25 mV s^{-1}$.

A FIGURA 4.9 mostra o comportamento voltamétrico do EPCM exibindo a diferença da corrente de pico em relação à solução na ausência e presença de dipirona. A corrente de pico anódico se mostra praticamente constante entre 2,5 e 8,0 e para valores de pH menores que 2,5 ocorre uma acentuada queda que pode estar relacionada com a distribuição das espécies de dipirona em função do pH (FIGURA 4.10).

A presença de altas concentrações da espécie (I), pode influenciar cineticamente na reação da dipirona com o complexo [VO-Salen] na superfície do eletrodo, já que esta é predominante no intervalo de pH entre 2,5 e 8,0. Em virtude dos resultados obtidos, escolheu-se trabalhar com uma solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ e pH 5,5 no restante do trabalho.

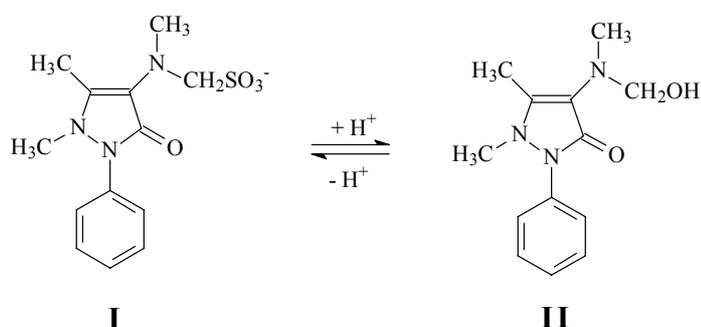


FIGURA 4.10. Representação das espécies de dipirona em função do pH (hidrólise ácida). Equação não balanceada.

4.1.5. Estudo de interferentes em potencial e teste de recuperação

O efeito de interferentes em potencial na determinação de dipirona em formulações farmacêuticas foi avaliado para excipientes normalmente presentes em amostras comerciais. Nesses experimentos, foram utilizadas soluções de referência de 1,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ de dipirona com cada um dos possíveis interferentes (metabissulfito, sacarina, EDTA, cafeína, ácido ascórbico e propilenoglicol) nas concentrações de 1,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ e 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹. Nenhuma das substâncias investigadas causou qualquer interferência na determinação de dipirona com exceção do ácido ascórbico encontrado concomitantemente em algumas amostras comerciais, que causou uma interferência positiva da ordem de 10% sobre o sinal analítico, em concentração 10

vezes maior que aquela de dipirona, impossibilitando a determinação de dipirona em amostras contendo esse excipiente. Essa interferência deve-se ao fato do ácido ascórbico ser um ótimo agente redutor, sendo mais facilmente oxidado que a dipirona na superfície do eletrodo.

Nos testes de adição e recuperação do analito, três concentrações diferentes de dipirona 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 4.1.

TABELA 4.1. Resultados do teste de recuperação de dipirona adicionada a formulações farmacêuticas empregando o EPCM proposto.

Amostra	Dipirona* / x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹		
	Adicionado	Recuperado	Recuperação / %
A	2,00	2,01 ± 0,01	100,5
	4,00	3,98 ± 0,01	99,5
	6,00	6,00 ± 0,02	100
B	2,00	2,00 ± 0,01	100
	4,00	3,97 ± 0,02	99,2
	6,00	6,04 ± 0,02	100,7
C	2,00	1,97 ± 0,02	98,5
	4,00	3,87 ± 0,02	96,7
	6,00	5,63 ± 0,03	93,8

* n = 5

Os valores percentuais de recuperação variaram entre 93,8 e 100,7 % sugerindo assim ausência de interferência da matriz no procedimento proposto.

4.1.6. Curva analítica e aplicações

A curva analítica (FIGURA 4.11) foi linear no intervalo de concentração de dipirona entre $9,0 \times 10^{-6}$ e $2,8 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ (ΔI (μA) = $8,99 + 6,87 \times 10^5$ [Dipirona] (mol L⁻¹), $r = 0,9995$) com um limite de detecção de $7,2 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ (3σ /inclinação). O desvio padrão relativo de 10 determinações sucessivas de dipirona $2,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ foi de 2,8 %.

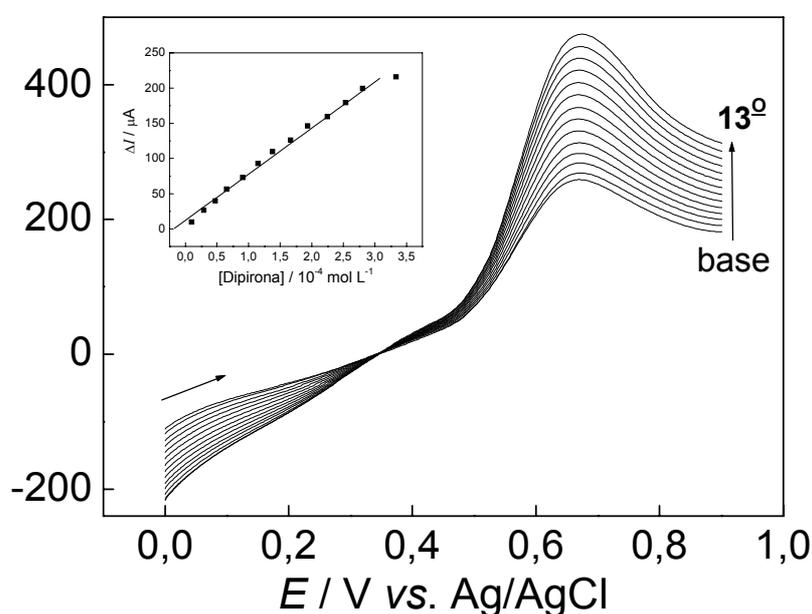


FIGURA 4.11. Voltamogramas lineares obtidos para o EPCM com [VO-Salen] na presença de diferentes concentrações de dipirona em meio de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, a 25 mV s^{-1} . Em detalhe está ilustrada a curva analítica obtida pelas correntes de pico anódico em função da concentração de dipirona.

O método proposto foi aplicado na determinação de dipirona em produtos farmacêuticos. Soluções de referência de dipirona e soluções das amostras foram adicionadas à célula eletroquímica. Os resultados obtidos estão apresentados na TABELA 4.2.

TABELA 4.2. Determinação de dipirona em produtos farmacêuticos empregando-se o EPCM proposto e o método iodimétrico²⁰⁹

Amostras	Rotulado	Referência	Proposto	Er ₁ / %	Er ₂ / %
A	500 ⁺	505 ± 2	509 ± 2	+ 0,8	+ 1,8
B	500 ⁺	506 ± 3	504 ± 2	- 0,4	+ 0,8
C	500 ⁺	486 ± 3	503 ± 2	+ 3,5	+ 0,6
D	500 [*]	511 ± 5	510 ± 3	- 0,2	+ 2,0
E	500 [*]	510 ± 2	512 ± 3	+ 0,4	+ 2,4
F	500 [*]	520 ± 2	527 ± 2	+ 1,3	+ 5,4

⁺ valores em mg mL⁻¹^{*} valores em mg (g de comprimido)⁻¹Er₁ = Proposto vs ReferênciaEr₂ = Proposto vs Rotulado

4.2. Construção de um EPCM com [VO-Salen] para a determinação de ranitidina em formulações farmacêuticas

4.2.1. Comportamento da ranitidina em voltametria linear utilizando um EPC não modificado

O comportamento voltamétrico da ranitidina foi estudado em meio aquoso por MALAGUTTI et al.²²³ utilizando um ultramicroeletrodo de platina com eletrodepósito de mercúrio (Hg-UME) e o eletrodo de gota pendente de mercúrio, HMDE. A voltametria de varredura linear (LSV) mostrou que o composto apresenta duas ondas de redução em $\text{pH} < 4,0$ ($-0,4 \text{ V}$ e $-0,75 \text{ V}$ vs. $\text{Ag/AgCl} - \text{KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$) e somente uma em $\text{pH} > 4,0$, ($\sim -1,2 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl para $\text{pH} = 7,0$). Este comportamento é característico da redução do grupo nitro em meio aquoso, e envolve quatro elétrons e quatro prótons em uma reação irreversível que leva à formação da hidroxilamina.

A FIGURA 4.12 apresenta os voltamogramas de varredura linear para um EPC não modificado na ausência e presença de ranitidina $9,1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, em meio de $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 5,5$).

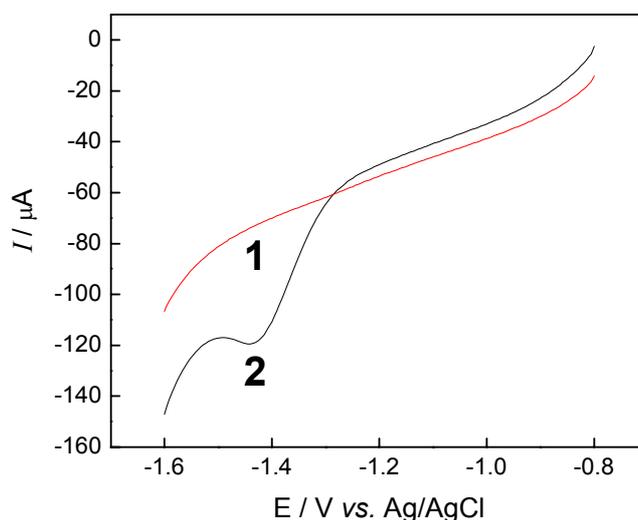
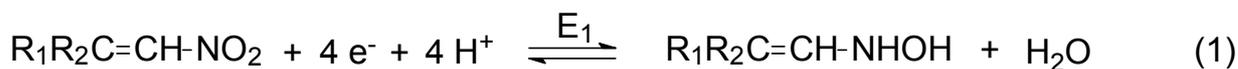


FIGURA 4.12. Voltamogramas obtidos para um EPC não modificado em solução de $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH } 5,5$) e velocidade de 25 mV s^{-1} na ausência (1) e presença (2) de ranitidina $9,1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Observa-se um pico catódico em torno de -1,4 V vs. Ag/AgCl que corrobora com os dados da literatura¹⁰² referentes ao mecanismo de redução do grupo nitro da ranitidina a hidroxilamina. A provável reação de redução da ranitidina é representada na reação (1).



4.2.2. Propriedades eletroquímicas do EPC modificado com [VO-Salen]

As respostas voltamétricas apresentadas a seguir foram obtidas empregando um EPCM com VO-Salen (20% m/m). A FIGURA 4.13 ilustra o comportamento eletroquímico do eletrodo modificado estudado em solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ (pH = 5,5). O voltamograma obtido entre -0,3 e 1,0 V (vs. Ag/AgCl – KCl 3,0 mol L⁻¹) apresenta eletroatividade tanto na direção anódica quanto na catódica. Os processos podem ser observados em +0,62 V (vs. Ag/AgCl) (pico I) e +0,20 V (vs. Ag/AgCl) (pico II) e podem ser atribuídos ao par redox V(IV)O²⁺/ V(V)O³⁺, representando um processo quasi-reversível nessas condições.

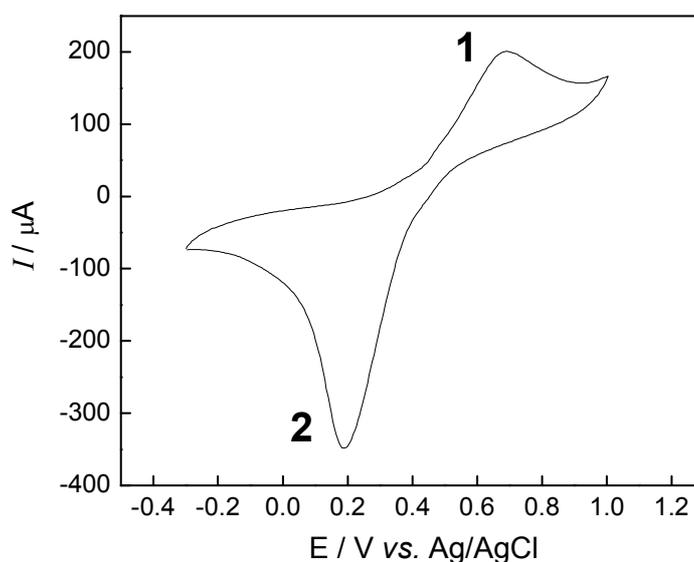


FIGURA 4.13. Voltamograma cíclico obtido para o EPCM com 20% (m/m) do complexo VO-Salen em solução de KCl 0,1 mol L⁻¹, pH 5,5.

Depois de verificado o intervalo onde o modificador apresenta eletroatividade, a região de varredura de potenciais foi realizada entre +1,0 e -0,3 V (vs. Ag/AgCl). A resposta do mesmo eletrodo também foi avaliada em outros eletrólitos suporte como o KNO_3 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e tampão fosfato em pH 5,5. O perfil voltamétrico observado não apresenta variação para o KNO_3 , porém é verificado um valor menor de corrente de pico para os processos redox do modificador.

4.2.3. Comportamento eletroquímico do EPCM com [VO-Salen] em presença de ranitidina utilizando voltametria de varredura linear

A FIGURA 4.14 apresenta os voltamogramas lineares para a eletrorredução catalítica da ranitidina empregando o EPCM com VO-Salen em uma solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 5,5) na ausência (1) e presença (2) de ranitidina $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

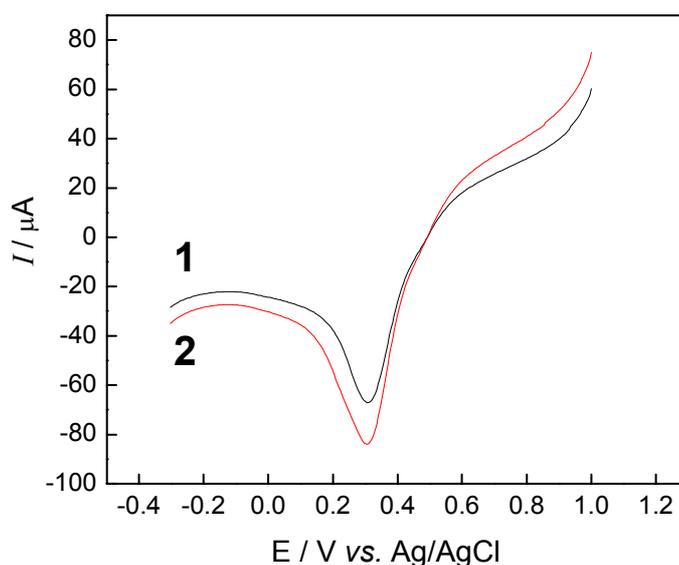


FIGURA 4.14. Voltamograma obtido para o EPCM com 20% (m/m) do complexo VO-Salen em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,5) e velocidade 25 mV s^{-1} na ausência (1) e na presença (2) de ranitidina.

O aumento da corrente de pico catódico em (2), evidencia claramente o processo catalítico na redução da ranitidina pelo cátion metálico central do complexo. Duas etapas redox podem descrever o mecanismo eletrocatalítico do EPCM com VO-Salen. A primeira envolve a redução química da ranitidina pelo $V(IV)O^{2+}$, na pasta de carbono produzindo conseqüentemente, a oxidação destes a $V(V)O^{3+}$ na superfície do eletrodo. Na segunda etapa, por ação do potencial aplicado, o $V(V)O^{3+}$ é regenerado eletroquimicamente, sendo o incremento da corrente de pico catódico proporcional à concentração de ranitidina em solução.

O mecanismo proposto para a redução da ranitidina empregando o EPCM é apresentado na FIGURA 4.15.

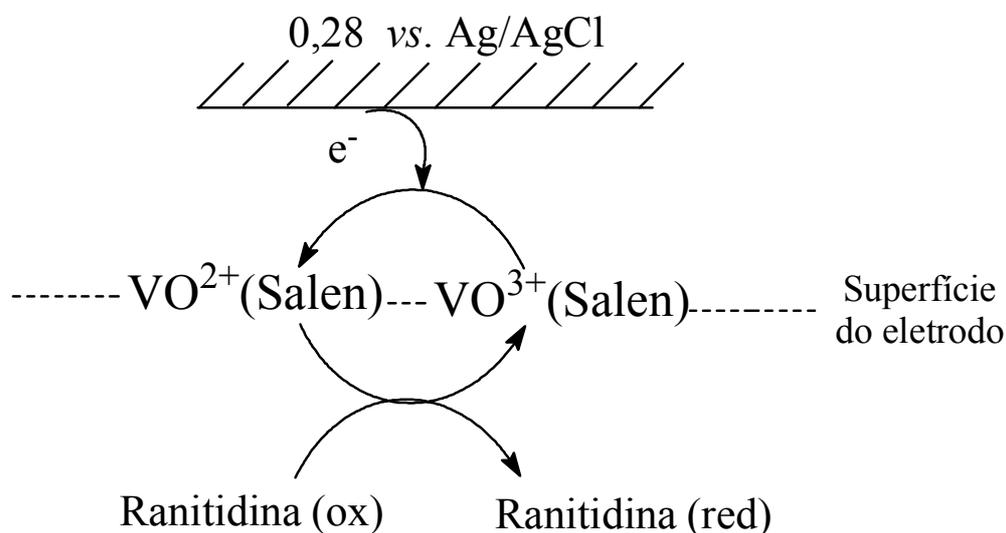


FIGURA 4.15. Mecanismo proposto para o funcionamento do EPCM-[VO-Salen] para a determinação de ranitidina.

4.2.4. Efeito da velocidade de varredura

A influência da velocidade de varredura de potenciais sobre a resposta voltamétrica do EPCM no intervalo de 5 a 200 $mV s^{-1}$ foi investigada para uma solução de $9,9 \times 10^{-5} mol L^{-1}$ de ranitidina em solução de KCl $0,1 mol L^{-1}$ (pH 5,5). A FIGURA 4.16 apresenta os voltamogramas obtidos para o eletrodo em solução na presença de ranitidina.

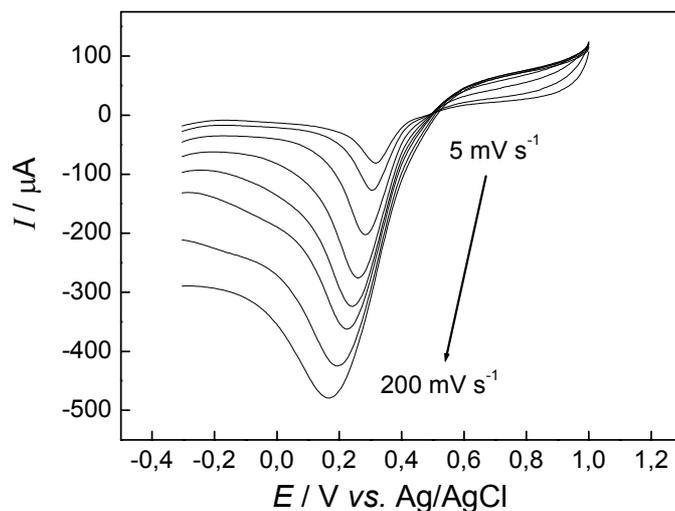


FIGURA 4.16. Variação da resposta voltamétrica do EPCM com [VO-Salen] com a velocidade de varredura na presença de $9,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de ranitidina em meio de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

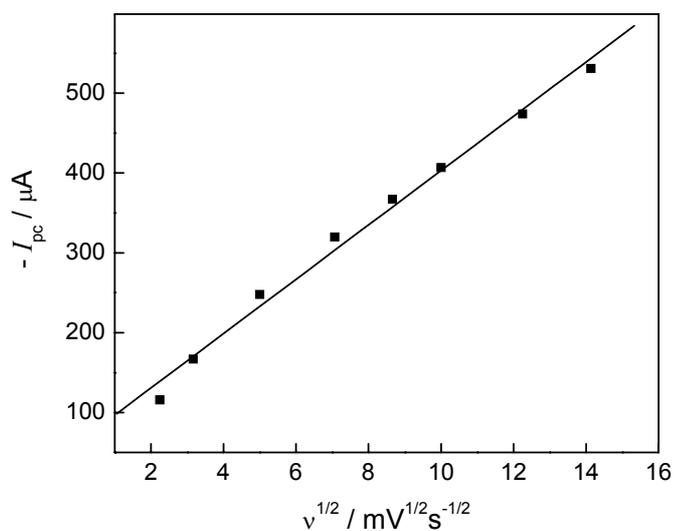


FIGURA 4.17. Dependência da raiz quadrada da velocidade varredura para o EPCM com [VO-Salen] na presença de $9,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de ranitidina em meio de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Os valores encontrados para a corrente de pico catódico foram representados graficamente com relação à raiz quadrada da velocidade de varredura.

Como pode ser observado na FIGURA 4.17, não há uma dependência linear entre as correntes de pico anódica e $v^{1/2}$. Isto sugere um processo misto controlado por adsorção e difusão para a oxidação do cátion VO^{2+} pela ranitidina na superfície do eletrodo.

Da mesma forma que no procedimento descrito anteriormente, a equação que descreve essa dependência: $-\Delta I_{pc} (\mu A) = 62,9 + 34,02 v^{1/2} (mV^{1/2} s^{-1/2})$, não intercepta o eixo Y na posição zero, indicando que o processo de transferência de elétrons não ocorre somente na interface entre o eletrodo e a solução, sugerindo que etapas de adsorção e/ou de interação com o sítio ativo podem estar envolvidas.

Apesar do aumento da corrente de pico catódico com a velocidade de varredura, em termos de incremento de corrente, calculado pela diferença da corrente de pico na ausência e na presença de ranitidina, observou-se uma maior magnitude para a velocidade de $25 mV s^{-1}$, sendo esta adotada para o seguimento do trabalho.

4.2.5. Efeito da acidez do meio

Estudos realizados em trabalhos anteriores²¹⁹⁻²²¹ demonstram que o complexo [VO-Salen] é estável em uma faixa ampla de pH em torno de 4,0 a 8,0. Entretanto, para a determinação de ranitidina utilizando o EPCM com [VO-Salen] pode-se observar que o valor da corrente de pico catódico aumenta com o valor do pH até um valor máximo de 5,5 (FIGURA 4.18). Após este valor a magnitude de corrente diminui.

Este comportamento pode ser explicado em função das espécies de ranitidina disponíveis em função do pH, como também pela estabilidade do complexo em função do pH. O equilíbrio ácido-base da ranitidina se deve à formação de um carbânion estabilizado por ressonância (Reação (2)) com valor de $pK_a = 2,7^{102}$.



Desta forma, quando o pH é maior que o pK_a , a espécie aniônica predomina na solução e a protonação do carbânion ocorre lentamente, o que dificulta a

redução da ranitidina pelo complexo [VO-Salen]. Para valores de $\text{pH} < \text{pK}_a$, a espécie neutra se encontra predominante na solução e o grupo nitro disponível para a redução. Somando-se estes fatores com os dados já relatados de estabilidade do complexo em função do pH, verifica-se que a diferença máxima de sinais de corrente de pico ocorre em pH 5,5 sendo este valor adotado no trabalho.

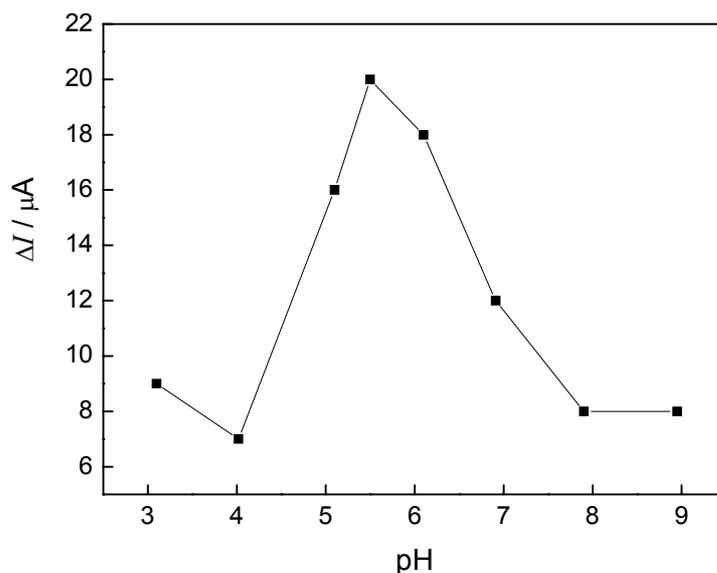


FIGURA 4.18. Variação da resposta voltamétrica do EPCM com [VO-Salen] em função do pH na presença de $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de ranitidina em meio de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

4.2.6. Estudo de interferentes em potencial e teste de recuperação

O efeito de interferentes em potencial na determinação de ranitidina em formulações farmacêuticas foi avaliado para excipientes normalmente presentes em amostras comerciais. Nesses experimentos, foram adicionadas à célula eletroquímica soluções de referência de $6,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de ranitidina com cada um dos possíveis interferentes (ácido ascórbico, ciclamato e sacarina) em concentrações de $6,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e $6,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Nenhuma das substâncias investigadas causou qualquer interferência na determinação de ranitidina com exceção do ácido ascórbico que causou uma interferência positiva da ordem de 5,5% quando presente em concentrações 10 vezes superior à de ranitidina. Como nos produtos farmacêuticos, o

teor de ácido ascórbico é menor que o teor estudado, amostras contendo este composto associado puderam ser analisadas sem maiores problemas.

4.2.7. Curva analítica e aplicações

Após a otimização das condições operacionais para o procedimento proposto, medidas voltamétricas foram feitas utilizando-se soluções de ranitidina em diferentes concentrações a fim de se obter uma curva analítica. Foi utilizada a técnica de voltametria de varredura linear, num intervalo de potenciais de +1,0 V a -0,3 vs. Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹), com velocidade de varredura de 25 mV s⁻¹. A FIGURA 4.19 ilustra os voltamogramas obtidos para diferentes concentrações de ranitidina.

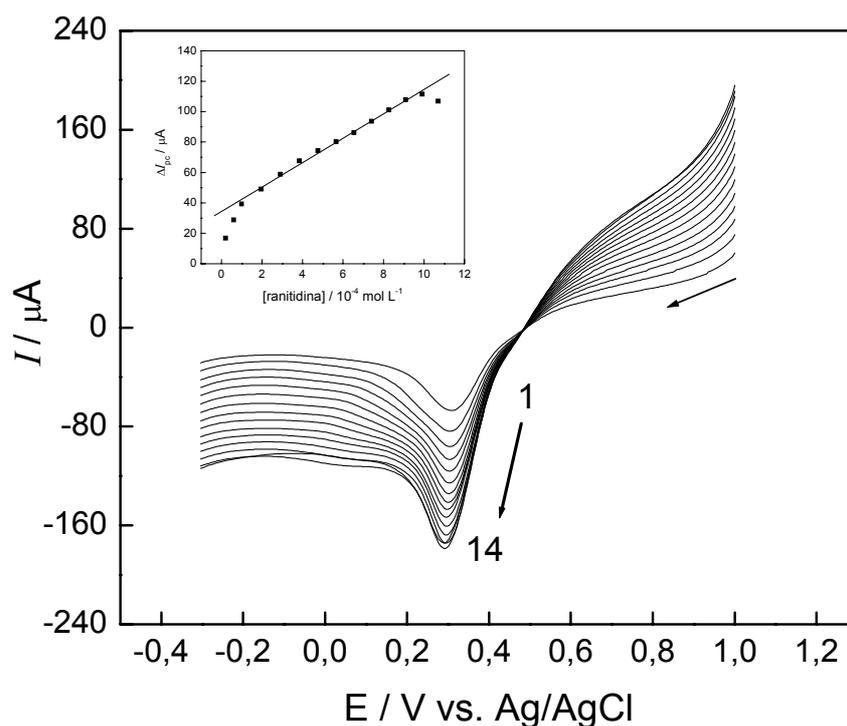


FIGURA 4.19. Voltamogramas lineares obtidos para o EPCM com [VO-Salen] na presença de diferentes concentrações de ranitidina em meio de KCl 0,1 mol L⁻¹, a 25 mV s⁻¹. Em detalhe está ilustrada a curva analítica obtida pelas correntes de pico anódico em função da concentração de ranitidina.

Os registros dos valores de corrente de pico catódica geraram uma relação linear com a concentração de ranitidina no intervalo de $9,9 \times 10^{-5}$ a $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ representada pela equação $(-\Delta I_{pc} / \mu A) = 34,3 + 80311C$ onde C é a concentração de ranitidina em mol L⁻¹ com um coeficiente de correlação de 0.9976 (n = 3) e um limite de detecção de $6,6 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (3σ /inclinação). O desvio padrão relativo de 10 determinações sucessivas de ranitidina $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ foi de 1,6 %.

O método proposto foi aplicado para a determinação de ranitidina em produtos farmacêuticos. Soluções de referência de ranitidina e soluções das amostras foram adicionadas à célula eletroquímica. Os resultados obtidos estão apresentados na TABELA 4.3.

TABELA 4.3. Determinação de ranitidina em produtos farmacêuticos empregando-se o EPCM proposto e o método oficial²⁰⁹.

Amostras	Rotulado	Referência	Proposto	Er ₁ / %	Er ₂ / %
A	168*	177 ± 2	181 ± 2	+ 7,7	+ 2,2
B	168*	173 ± 3	178 ± 2	+ 6,0	+ 2,9
C	16,8 ⁺	17,1 ± 0,6	17,5 ± 0,2	+ 4,2	+ 2,3
D	168*	176 ± 3	172 ± 2	+ 2,4	- 2,3

⁺ valores em mg mL⁻¹

* valores em mg comprimido⁻¹

Er₁ = Proposto vs Rotulado

Er₂ = Proposto vs Referência

4.3. Construção de um EPCM com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$ para a determinação de dipirona em formulações farmacêuticas

4.3.1. Comportamento da dipirona em voltametria cíclica utilizando um EPC não modificado

O comportamento eletroquímico da dipirona utilizando voltametria cíclica já foi reportado em 4.1.1 sendo as mesmas discussões válidas para este procedimento.

4.3.2. Propriedades eletroquímicas do EPC modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$

O comportamento voltamétrico do eletrodo de pasta de carbono foi investigado em tampão acetato $0,20 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,8 contendo $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ dos cátions (Li^+ , Na^+ , K^+ , Cs^+). A FIGURA 4.20 mostra um ciclo voltamograma típico para o EPCM com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$ e apresenta um par redox reversível em $+0,58 \text{ V}$ pico (I) e $+0,26 \text{ V}$ pico (II) referentes a reação $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$.

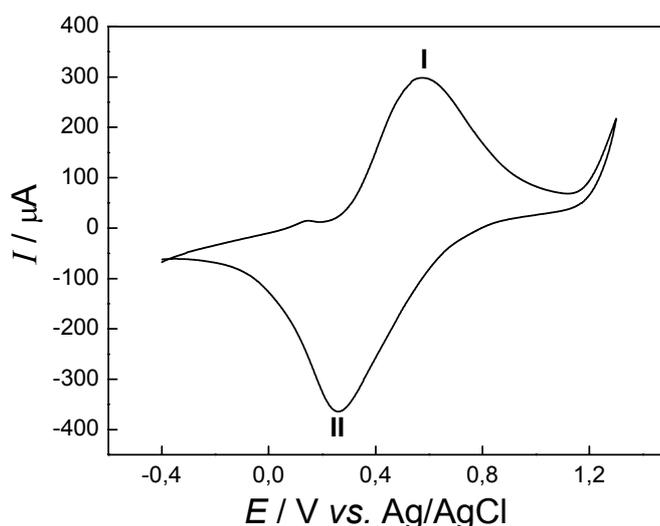


FIGURA 4.20. Comportamento eletroquímico do EPCM com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$. Velocidade de varredura 10 mV s^{-1} , em meio de tampão $0,20 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,8 contendo $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl.

É importante ressaltar que no intervalo de potenciais estudado não se observa nenhum processo referente ao Cu(II) o que indica uma grande estabilidade do complexo. Eventualmente, dependendo da forma como o complexo é obtido, um par redox referente ao processo $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$ pode ser observado em torno de 0,2 V²²⁴. Este comportamento é atribuído não aos átomos de Cu(II) coordenados no complexo, mas sim aos íons metálicos presentes nos interstícios do complexo.

O comportamento voltamétrico do eletrodo modificado foi também avaliado em função do cátion metálico contido no eletrólito suporte. Observa-se que o perfil voltamétrico do EPCM é bastante afetado diminuindo a magnitude da corrente de pico à medida que se aumenta o raio iônico do contra-íon utilizado. Este efeito da resposta em termos de corrente e potencial de pico demonstra a habilidade (facilidade ou dificuldade) do cátion em entrar e sair dos interstícios da célula unitária do complexo o que define o perfil voltamétrico observado.

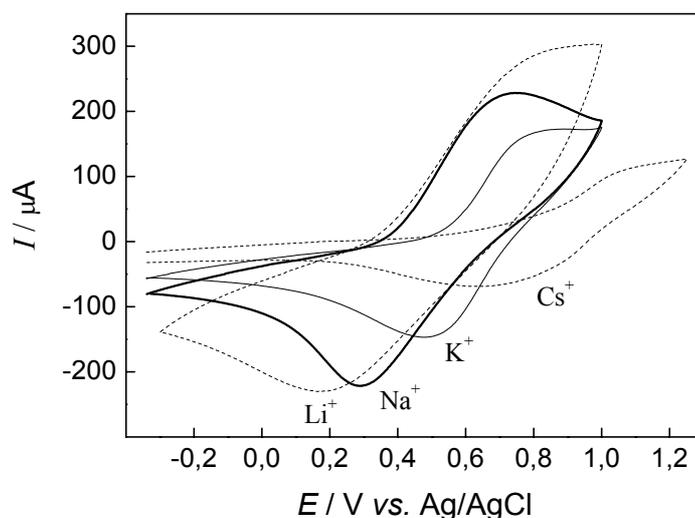


FIGURA 4.21. Efeito do contra-íon contido no eletrólito suporte. Concentração do cátion metálico de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Velocidade de varredura 10 mV s^{-1} , em meio de tampão $0,20 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,8.

O tamanho da célula unitária e da cavidade formada no complexo CuHCF são respectivamente 10,0 e 3,2 Å. Os íons hidratados de Na^+ e K^+ tem tamanho em torno de 2,4 Å o que permite facilmente a entrada e saída destes cátions nos

interstícios do complexo gerando uma corrente faradaica. Como o raio iônico dos outros cátions é maior que a cavidade zeolítica do complexo, o movimento de entrada e saída do contra-íon fica restrito e afeta o comportamento voltamétrico do EPCM.

A mudança de potencial induzido pela substituição dos cátions de metais alcalinos no eletrólito suporte foi também observado em outros hexacianoferratos metálicos²²⁵⁻²²⁷. Embora diversos artigos sugiram o uso do K^+ como contra-íon²²⁸⁻²³⁰, o íon Na^+ foi escolhido por apresentar um melhor perfil voltamétrico e deslocar o potencial de pico anódico para um valor menor que aquele observado utilizando K^+ como contra-íon. Este fato pode ser relacionado com o método escolhido para a preparação do $Cu_3[Fe(CN)_6]_2$, que conduz a uma má formação do material cristalino. Desta forma, uma solução de tampão acetato $0,20 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,8 contendo $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de Na^+ , foi escolhida para a seqüência do trabalho.

4.3.3. Comportamento eletroquímico do EPCM com $Cu_3[Fe(CN)_6]_2$ em presença de dipirona utilizando voltametria cíclica

Neste trabalho foi desenvolvido um eletrodo de pasta de carbono modificado com hexacianoferrato (III) de cobre (II) para a determinação voltamétrica de dipirona em formulações farmacêuticas. A FIGURA 4.22. apresenta os voltamogramas cíclicos típicos obtidos para EPC e EPCM com CuHCF em solução tampão acetato $0,20 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,8 contendo $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de Na^+ na ausência e na presença de dipirona $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

O mecanismo de funcionamento do EPCM com hexacianoferrato (III) de cobre (II) foi baseado em duas reações redox. A primeira envolve a redução de Fe(III) pela dipirona na pasta de carbono formando Fe(II) na superfície do eletrodo e o produto de oxidação da dipirona em solução. O íon Fe(II) formado é então oxidado eletroquimicamente a Fe(III). A corrente de pico anódica obtida em potencial $+0,62 \text{ V}$ (vs. Ag/AgCl – KCl $3,0 \text{ mol L}^{-1}$) é proporcional à concentração de dipirona em solução. Apesar do potencial mais positivo atribuído ao par redox Fe(II)/Fe(III), em relação ao potencial de oxidação da dipirona, o uso do modificador é justificado por apresentar um maior incremento de corrente de pico anódica, para uma mesma concentração de dipirona, em comparação com o EPC não modificado. Desse modo, tanto a

sensibilidade como a magnitude do sinal analítico aumenta e níveis de concentração menores de dipirona podem ser determinados.

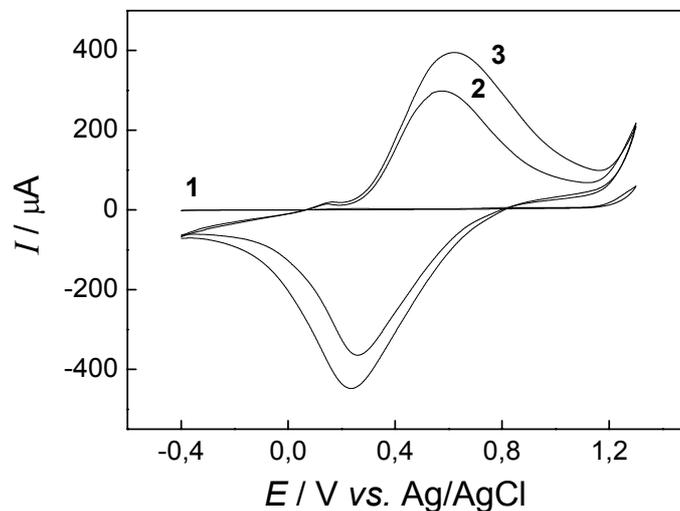


FIGURA 4.22. Comportamento eletroquímico do EPCM com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$. Em (1) é representado o EPC na presença de dipirona $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Em (2) e (3) estão representados, respectivamente, o EPCM na ausência e presença de dipirona $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

A FIGURA 4.23 mostra o esquema reacional na interface eletrodo-solução para a determinação de dipirona.

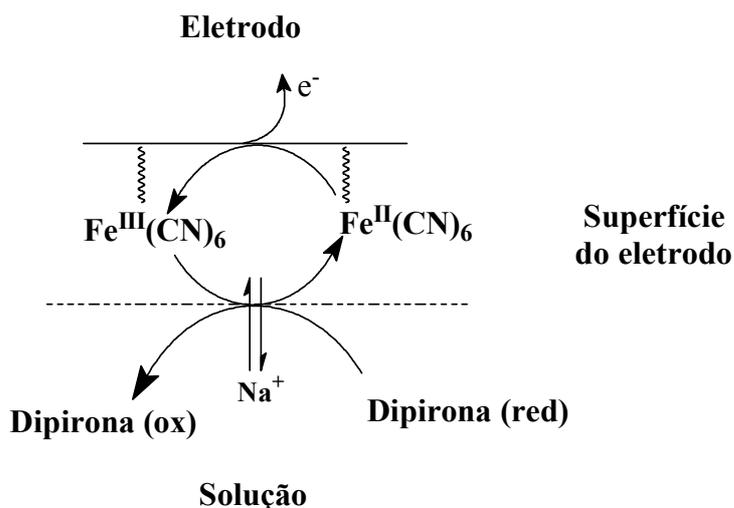


FIGURA 4.23. Mecanismo proposto para a resposta voltamétrica do eletrodo modificado (EPCM).

5.3.4. Efeito da composição da pasta de carbono modificada

O efeito da composição da pasta sobre a resposta voltamétrica do eletrodo modificado foi inicialmente avaliado no intervalo de 10 a 35% (m/m), em uma solução tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,8). A FIGURA 4.24 mostra o efeito da porcentagem em massa de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$ presente na pasta de carbono sobre a resposta do eletrodo.

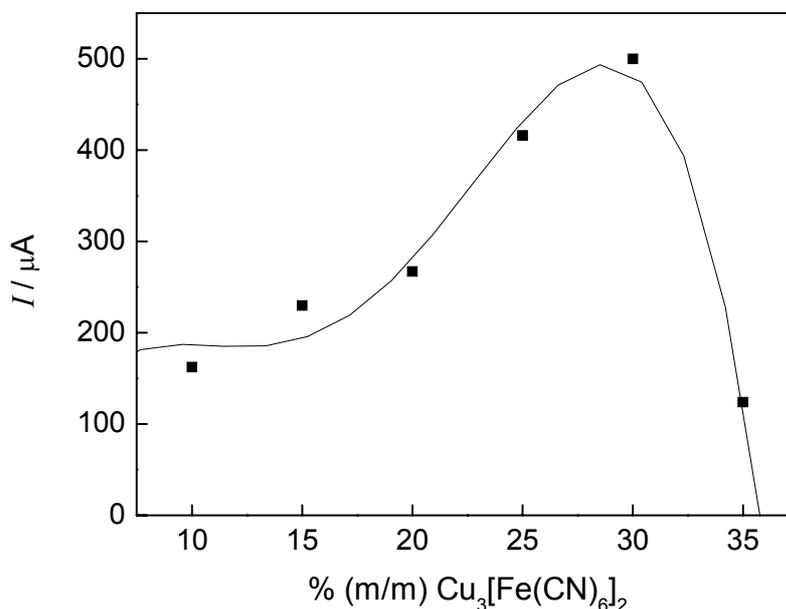


FIGURA 4.24. Estudo da composição da pasta de carbono sobre a resposta voltamétrica em uma solução tampão acetato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,8); $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$.

Como pode ser observado, o aumento da concentração de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$ na pasta de carbono levou a um aumento na corrente de pico anódica obtida até uma composição de 30% (m/m). Para concentrações de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$ superiores a 30% (m/m) obteve-se correntes de pico menores devido a um aumento da resistência da pasta de carbono causada pela diminuição da concentração de grafite na mesma. Por apresentar um melhor perfil voltamétrico uma composição de 20% (m/m) de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$, 60% (m/m) de pó de grafite e 20% (m/m) de óleo mineral foi escolhida.

4.3.5. Efeito da acidez do meio

O comportamento eletroquímico de eletrodo de pasta de carbono modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$ (20% m/m) foi estudado em um intervalo de pH de 3,0 a 8,5 na ausência e na presença de uma solução de dipirona $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. A FIGURA 4.25 mostra o efeito da acidez do meio sobre a corrente de pico anódico do eletrodo modificado, para a diferença entre as correntes na ausência e presença de dipirona.

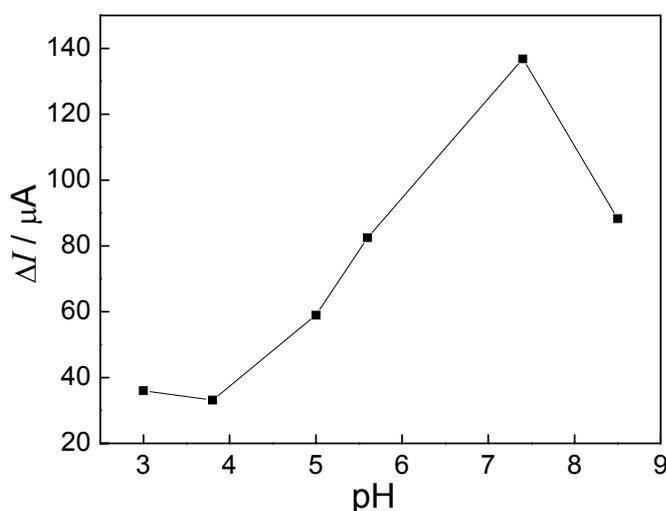


FIGURA 4.25. Influência do pH na resposta voltamétrica do eletrodo de pasta de carbono modificado com 20% (m/m) de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$ em solução tampão acetato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$.

Observa-se um aumento significativo da corrente de pico para valores de pH entre 3,0 e 7,4 o que provavelmente se deve a influência dos íons H^+ na cinética de reação entre a dipirona e o CuHCF na superfície do eletrodo. A razão para isso está representada na FIGURA 4.10 que mostra a distribuição das espécies de dipirona em função do pH. A oxidação da espécie carregada negativamente é facilitada, pois o potencial de eletrodo padrão para a dipirona em meio básico é mais negativo que em meio ácido²³¹. Para valores de pH acima de 7,4 observa-se um aumento na magnitude de corrente. Isso se deve ao fato de que muitos hexacianoferratos metálicos

apresentam resposta eletroquímica estável somente em meio neutro ou levemente ácido devido a hidrólise dos íons Cu(II) e Fe(III) em meio alcalino, o que leva à deterioração do eletrodo modificado.

Sendo assim, uma solução tampão acetato 0,20 mol L⁻¹ (pH 7,4) foi escolhida para estudos posteriores.

4.3.6. Efeito da velocidade de varredura de potenciais

O efeito da velocidade de varredura de potenciais na resposta voltamétrica do eletrodo de pasta de carbono modificado com Cu₃[Fe(CN)₆]₂ 20% (m/m) em solução tampão acetato 0,20 mol L⁻¹ (pH 7,4) foi investigado na ausência e na presença de 5,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ de dipirona em um intervalo de 5 a 150 mV s⁻¹.

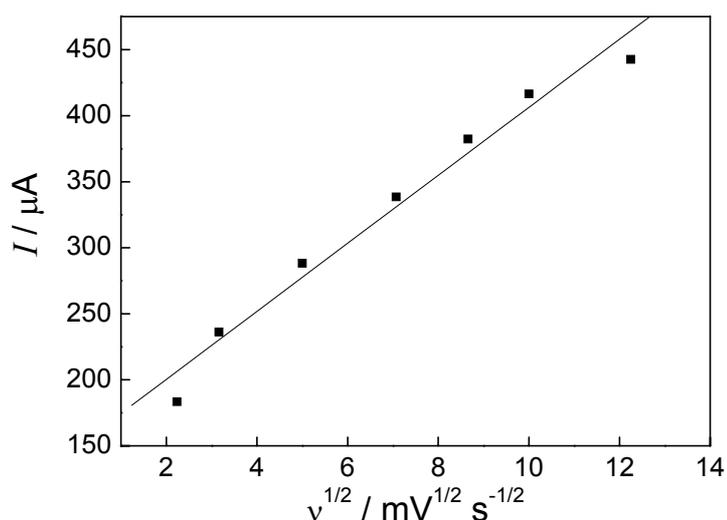


FIGURA 4.26. Efeito da raiz quadrada da velocidade de varredura no processo difusional das espécies referentes ao processo de oxidação da dipirona 5,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ na superfície do eletrodo em solução tampão acetato 0,20 mol L⁻¹ pH 7,4.

A FIGURA 4.26 mostra que a dependência das correntes de pico anódico, referente ao processo de oxidação na superfície do eletrodo, com a raiz quadrada da velocidade de varredura de potenciais não apresenta um comportamento completamente linear. Isso indica que o controle da reação não se dá somente de

forma difusional. A difusão é decorrente do movimento dos íons sódio do seio da solução à superfície do eletrodo, entretanto, devido ao tamanho das cavidades encontradas na estrutura do hexacianoferrato, moléculas de dipirona podem também chegar à superfície do eletrodo estabelecendo um controle cinético da reação por meio da adsorção destas espécies à superfície do eletrodo.

Em velocidades acima de 100 mV s^{-1} , os voltamogramas não apresentaram uma boa definição dos picos anódicos, e apresentaram um deslocamento de potencial de pico anódico para valores mais positivos, provavelmente devido a lenta transferência lenta de elétrons na reação redox. Em virtude destes resultados foi escolhida uma velocidade de varredura de potenciais de 10 mV s^{-1} , pois esta apresentou um melhor perfil voltamétrico.

4.3.7. Estudo de interferentes em potencial

Foram avaliados alguns excipientes presentes em amostras comerciais que podem interferir na determinação de dipirona. As substâncias avaliadas foram: ácido ascórbico, metabissulfito, cafeína, sacarina e EDTA em solução de acetato de sódio pH 7,0 ($0,20 \text{ mol L}^{-1}$) em uma razão de concentração de 1:1 (interferente:analito), sendo a concentração de dipirona $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Todas substâncias investigadas não causaram interferência na determinação de dipirona nessa razão de concentração, com exceção do ácido ascórbico que causou uma interferência positiva da ordem de 12%. Em virtude disso, amostras contendo ácido ascórbico não foram analisadas por este procedimento.

4.3.8. Curva analítica e aplicação

Após otimizar as melhores condições de trabalho para o eletrodo de pasta de carbono, realizaram-se medidas voltamétricas no intervalo de potencial de -0,4 a +1,3 V (vs. Ag/AgCl) em diferentes concentrações de dipirona, a fim de se obter uma curva analítica.

A FIGURA 4.27 mostra os voltamogramas obtidos para diferentes concentrações de uma solução padrão de dipirona. A equação da curva analítica obtida

foi $\Delta I_{pa}(\mu A) = 38 + 75,4798 \text{ Log [Dipirona]} (10^{-5} \text{ mol L}^{-1})$ para o intervalo de concentrações de $9,9 \times 10^{-6}$ a $2,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ com limite de detecção de $8,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e desvio padrão relativo de 1,8% ($n = 3$).

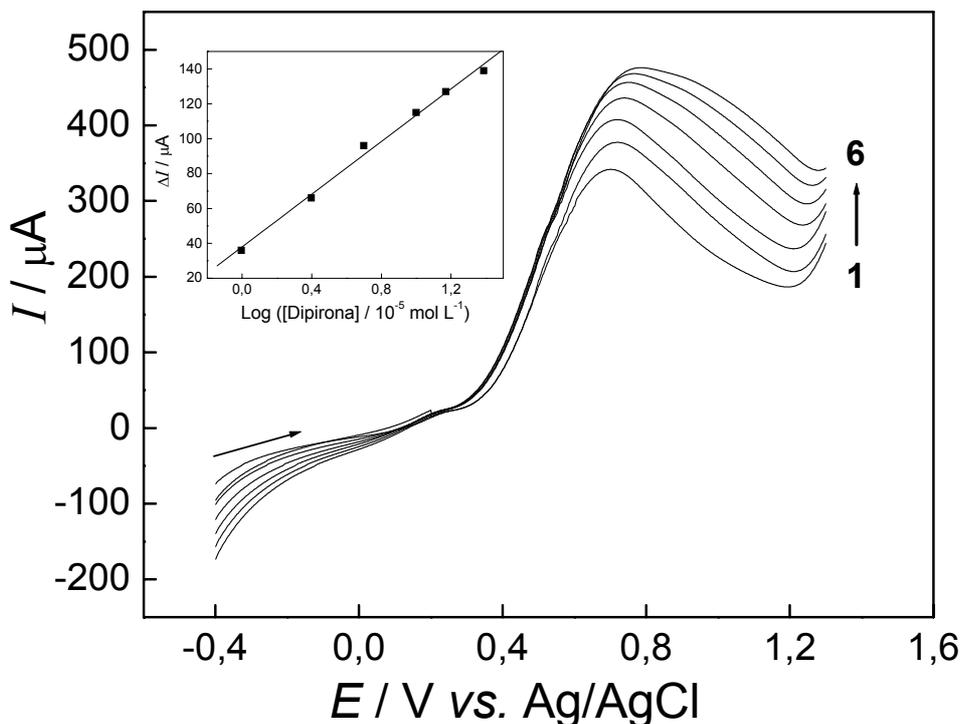


FIGURA 4.27. Curva analítica obtida para dipirona empregando-se um EPCM com hexacianoferrato(III) de cobre(II) em solução tampão acetato $0,20 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,4).

O método proposto foi aplicado na determinação de dipirona em seis formulações farmacêuticas e os resultados comparados com aqueles obtidos empregando-se o método comparativo²⁰⁹.

Os resultados obtidos empregando-se o procedimento voltamétrico desenvolvido e o método comparativo são apresentados na TABELA 4.4. Com um nível de confiança de 95%, os resultados encontrados foram concordantes dentro de um intervalo de erro aceitável, mostrando-se assim a confiabilidade do procedimento desenvolvido e a importância do mesmo.

TABELA 4.4. Determinação de dipirona em produtos farmacêuticos empregando-se o procedimento proposto e o método iodimétrico²⁰⁹.

Amostras	Rotulado	Referência	Proposto	Er ₁ / %	Er ₂ / %
A	500*	505 ± 2	521 ± 2	+ 4,2	+ 3,2
B	500*	506 ± 3	511 ± 2	+ 2,2	+ 1,0
C	500*	486 ± 3	508 ± 2	+ 1,6	+ 4,5
D	500 [#]	511 ± 5	494 ± 3	- 1,2	- 3,3
E	500 [#]	510 ± 2	536 ± 3	+ 7,2	+ 5,1
F	500 [#]	520 ± 2	507 ± 2	+ 1,4	- 2,5

* valores em mg mL⁻¹

[#] valores em mg comprimido⁻¹

Er₁ = Proposto vs Rotulado

Er₂ = Proposto vs Referência

4.4. Construção de um EPCM com R-[- ϕ -CH₂N(CH₃)₃]₃⁺[Fe(CN)₆]₃⁻ para a determinação amperométrica de paracetamol

4.4.1. Comportamento voltamétrico do paracetamol utilizando um EPC não modificado

Primeiramente estudou-se o comportamento voltamétrico do paracetamol utilizando um EPC não modificado em meio de HClO₄ 0,1 mol L⁻¹. A uma velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹, observou-se um pico no sentido anódico em torno de 0,8 V vs. Ag/AgCl que corresponde a oxidação do paracetamol a N-acetil-*p*-benzoquinona imina (FIGURA 4.28). A oxidação eletroquímica do paracetamol envolve a transferência de dois elétrons e dois prótons. Porém, a formação da N-acetil-*p*-benzoquinona imina a partir de uma reação de hidratação irreversível (FIGURA 4.28 – ETAPA 3) é dependente do pH da solução e da velocidade de varredura aplicada²³²⁻²³⁴.

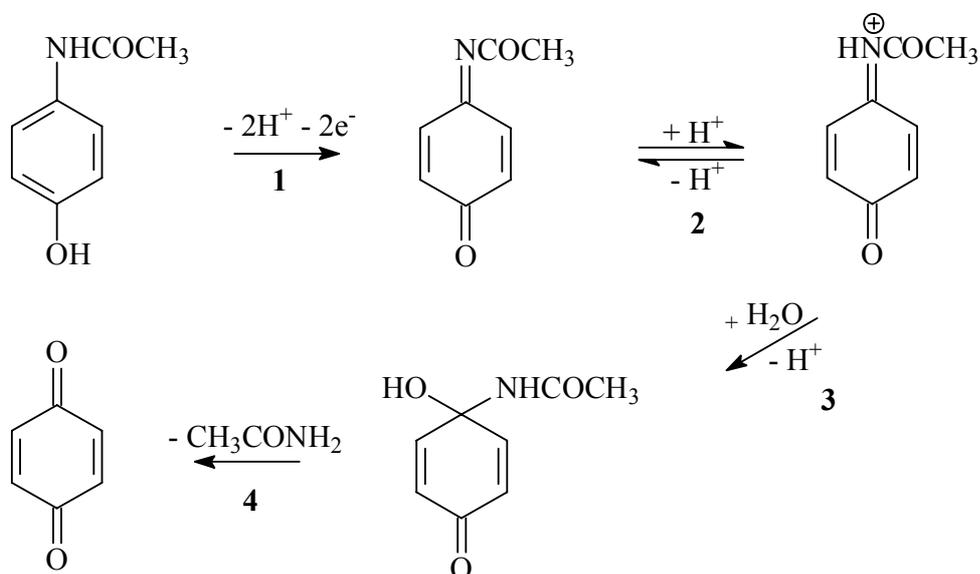


FIGURA 4.28. Representação das etapas de oxidação do paracetamol

A FIGURA 4.29 mostra os voltamogramas obtidos utilizando o EPC na ausência (A) e presença (B) de uma solução de paracetamol $9,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

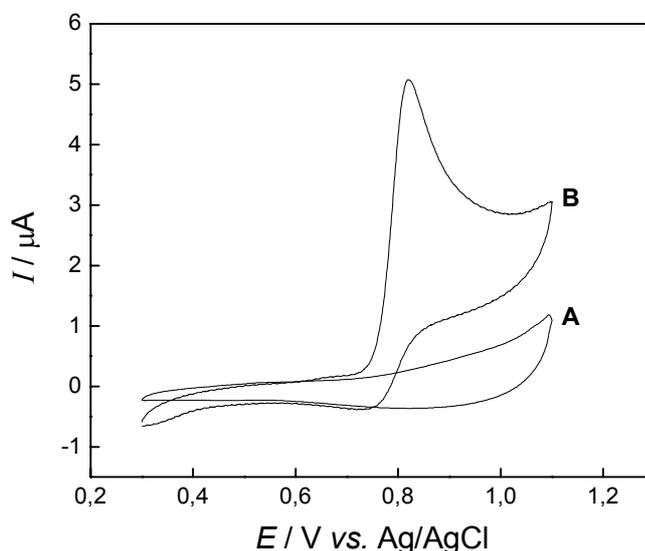


FIGURA 4.29. Voltamogramas obtidos para o EPC na ausência (A) e na presença (B) de paracetamol $9,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

4.4.2. Propriedades eletroquímicas do EPC modificado com $\text{R-}[-\phi\text{-CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3]_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$

A FIGURA 4.30 apresenta os ciclovoltagemogramas obtidos em solução de ácido perclórico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e velocidade de varredura de potenciais de 100 mV s^{-1} empregando-se o eletrodo modificado com a resina aniônica (Lewatit M500 – Bayer) contendo íons cloreto (branco) (A) e aquele modificado com hexacianoferrato (III) imobilizado na resina aniônica (B). Podemos notar claramente a presença de um processo redox totalmente reversível por volta de $550 \text{ mV vs. Ag/AgCl}$, que pode ser atribuído ao processo $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} \rightarrow [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ na superfície do eletrodo. A repetibilidade do EPCM foi estudada neste mesmo eletrólito suporte e um decréscimo da corrente catódica ou anódica de $1,5 \%$ foi verificada após 30 ciclos, mostrando que a imobilização do hexacianoferrato(III) na resina aniônica ($\text{R-}[-\phi\text{-CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3]_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$) foi satisfatória. Ademais, o emprego de parafina sólida,

em substituição ao óleo mineral como agente aglutinante da pasta proporcionou uma diminuição acentuada da lixiviação da mesma para a solução no intervalo de potencial estudado.

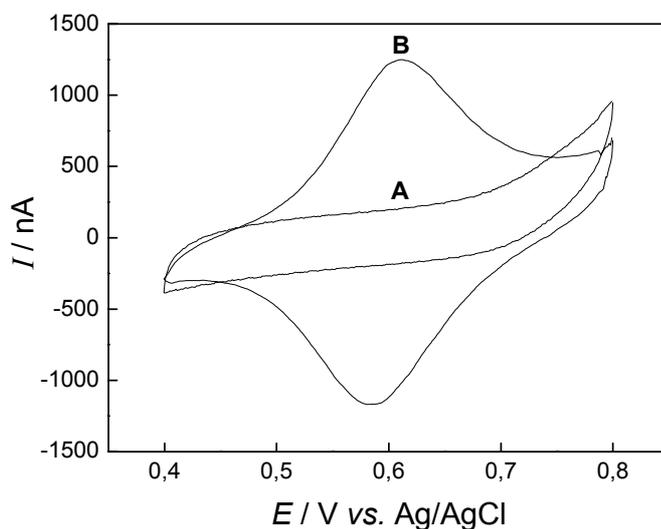


FIGURA 4.30. Voltamogramas cíclicos obtido para o EPCM com 20% (m/m) da R-[-φ-CH₂N⁺(CH₃)₃]₃[Fe(CN)₆³⁻] em solução de HClO₄ 0,1 mol L⁻¹, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

4.4.3. Comportamento do EPCM em presença de paracetamol

Após verificar o comportamento redox do EPCM, este foi submetido a uma voltametria cíclica em eletrólito suporte contendo paracetamol. Na FIGURA 4.31 observamos os voltamogramas referentes ao EPCM como íon ferricianeto na ausência (A) e na presença (B) de paracetamol. Nota-se um incremento de corrente de pico tanto anódica como catódica quando presente $9,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de paracetamol, indicando que existe uma influência no processo de oxidação do paracetamol pelo modificador.

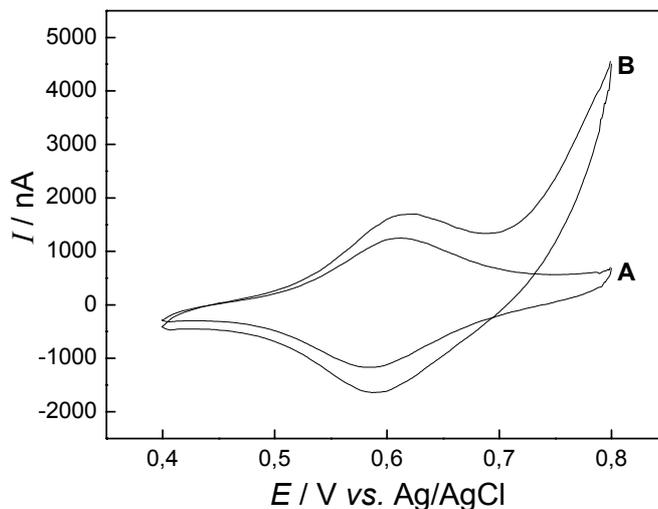


FIGURA 4.31. Voltamogramas obtidos para o EPCM com 20% (m/m) da RTI-[Fe(CN)₆]³⁻ em solução de HClO₄ 0,1 mol L⁻¹ e v = 100 mV s⁻¹ na ausência (A) e na presença (B) de paracetamol 9,8 x 10⁻⁵ mol L⁻¹.

A proposta de mecanismo do eletrodo proposto é que existe uma reação entre o eletrodo e o analito semelhante a um mecanismo CE, que pode ser descrito em duas etapas, uma química e outra eletroquímica (FIGURA 4.32).

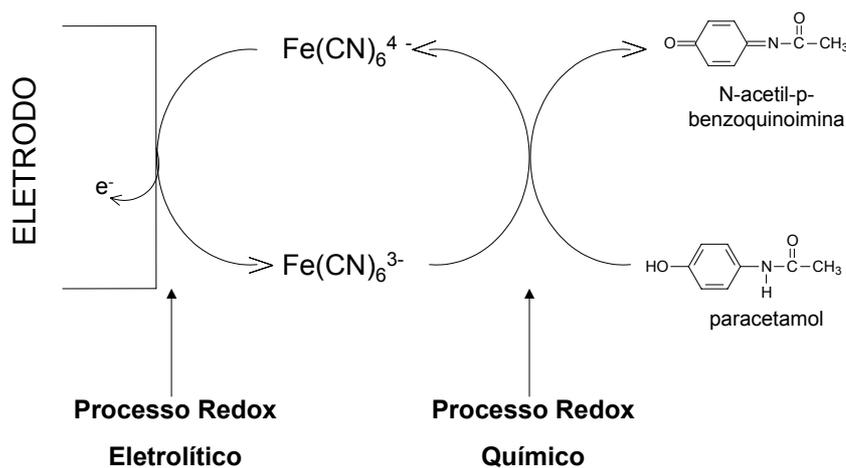


FIGURA 4.32. Mecanismo proposto para a determinação de paracetamol utilizando o EPCM com Fe(CN)₆³⁻.

A primeira envolve a oxidação química do paracetamol pelos íons hexacianoferrato (III), ocasionando, conseqüentemente, a redução destes a íons hexacianoferrato (II). Na segunda etapa, por ação de um potencial, os íons ferricianeto são regenerados eletroquimicamente, sendo o incremento da corrente de pico anódico proporcional à concentração de paracetamol em solução.

4.4.4. Estudos preliminares

Inicialmente estudou-se o efeito da composição da pasta de carbono sobre a resposta voltamétrica do EPCM. Nesse estudo a composição do modificador (R-[-φ-CH₂N⁺(CH₃)₃][Fe(CN)₆³⁻]) na pasta de carbono, foi variada de 5 a 25% (m/m), a parafina sólida de 10 a 30% (m/m) e o pó de grafite fixado em 65% (m/m) por apresentar melhor desempenho analítico. A melhor composição encontrada nesse estudo foi de 20%, 15% e 65%, respectivamente.

O efeito da acidez do meio e do eletrólito suporte sobre a resposta voltamétrica também foi avaliado utilizando diferentes soluções tais como: HCl, HClO₄, KCl e NaCl em diferentes concentrações. Os ânions Cl⁻ e ClO₄⁻ foram mantidos em virtude da seletividade maior da resina aniônica pelos íons ferricianeto com relação a estes. Utilizando-se uma solução de HClO₄ 0,1 mol L⁻¹ observou-se um melhor perfil voltamétrico tanto em termos de corrente de pico como em termos de reversibilidade do sistema, adotando-se esta solução como eletrólito suporte.

4.4.5. Curva analítica e aplicação

Após a otimização das condições operacionais para o procedimento proposto, medidas cronoamperométricas foram feitas utilizando-se soluções de paracetamol em diferentes concentrações a fim de se obter uma curva analítica. A FIGURA 4.33 ilustra um cronoamperograma obtido para diferentes concentrações de paracetamol.

Os registros dos valores de corrente (a + 0,58 V) geraram uma relação linear com a concentração de paracetamol no intervalo de $2,0 \times 10^{-5}$ a $6,6 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹

representada pela equação $\Delta I \text{ (nA)} = 75,7 + 46,70C$ onde C é a concentração de paracetamol em $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ com um coeficiente de correlação de 0.9982 ($n = 6$). Para concentrações maiores que $6,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ já ocorre um desvio da linearidade. O limite de detecção foi de $1,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. O desvio padrão relativo de 10 determinações sucessivas de paracetamol $5,0 \times 10^{-5}$, $1,0 \times 10^{-4}$ e $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ foi menor que 1,5 %.

No estudo de adição e recuperação de paracetamol em três produtos farmacêuticos a recuperação deste fármaco variou de 96,8 a 105 %.

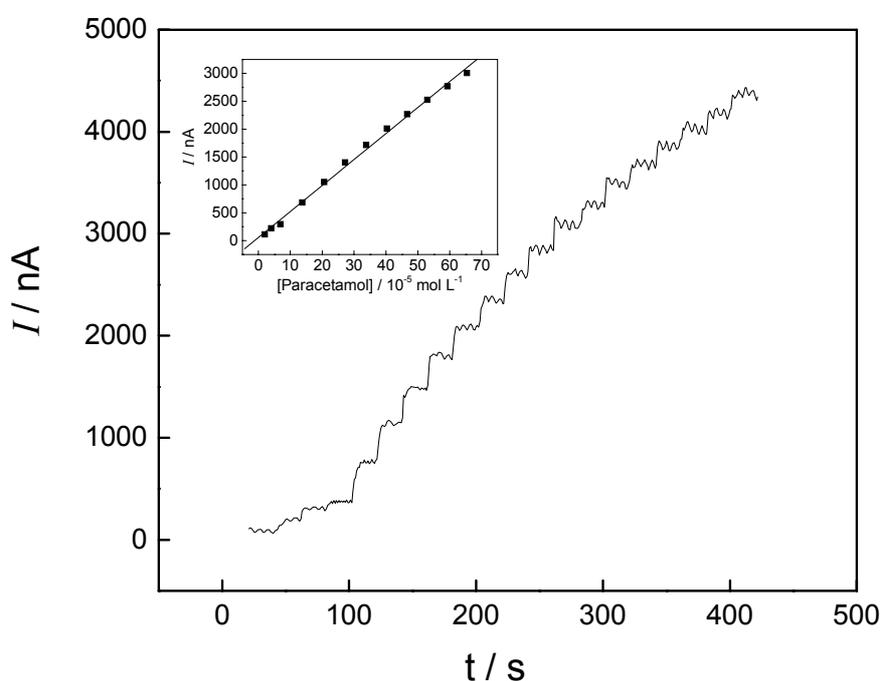


FIGURA 4.33. Curva analítica para a determinação de paracetamol utilizando o EPCM com $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$.

O procedimento proposto foi aplicado na determinação de paracetamol em formulações farmacêuticas. Concentrações de paracetamol foram determinadas utilizando-se o método de adições múltiplas de padrão e os resultados comparados com o método oficial²⁰⁹. O método se mostrou simples, rápido e eficiente podendo ser utilizado na determinação de paracetamol em formulações farmacêuticas. A TABELA 4.5 mostra o resultado para seis amostras comerciais.

TABELA 4.5. Determinação de paracetamol em produtos farmacêuticos empregando-se o EPCM proposto e o método espectrofotométrico²⁰⁹.

Amostras	Rotulado*	Referência	Proposto	Er ₁ / %	Er ₂ / %
A	200	202 ± 3	198 ± 3	- 1,0	- 2,0
B	200	207 ± 4	206 ± 4	+ 3,0	- 0,5
C	100	99 ± 3	104 ± 2	+ 4,0	+ 5,0
D	100	106 ± 3	102 ± 3	+ 2,0	- 3,7
E	40	42 ± 2	41 ± 2	+ 2,5	- 2,3
F	40	41 ± 2	39 ± 2	- 2,5	- 4,8

*mg paracetamol / mL Er₁ = proposto vs. rotulado Er₂ = proposto vs. referência

4.5. Determinação amperométrica de captopril utilizando um eletrodo de pasta de carbono (EPC) em sistema FIA

4.5.1. Comportamento eletroquímico do captopril utilizando o EPC e voltametria cíclica

A oxidação do captopril foi estudada inicialmente empregando a técnica de voltametria cíclica para elucidar o seu comportamento eletroquímico. A oxidação eletroquímica do captopril é representada através de picos irreversíveis a +0,27 V (pico 1) e +0,74 V (pico 2) vs. Ag/AgCl/KCl 3 mol L⁻¹ em solução de tampão acetato 0,10 mol L⁻¹ (pH 3,6) como mostrado na FIGURA 4.34.

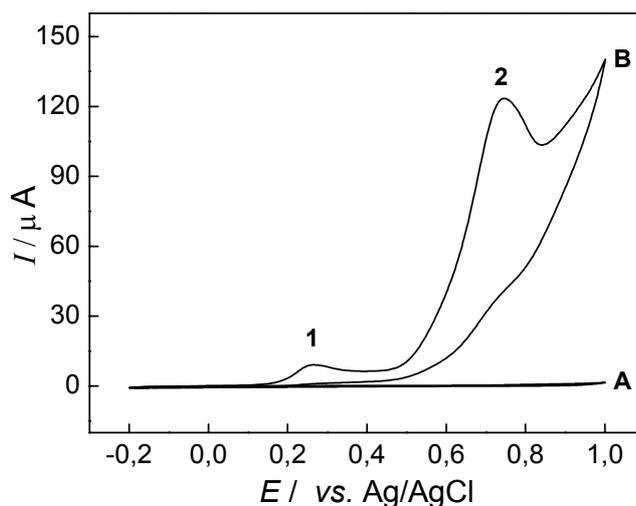


FIGURA 4.34. Voltamograma cíclico em solução tampão acetato (pH = 3,6) utilizando um eletrodo de pasta de carbono (EPC) na ausência (A) e na presença (B) de uma solução $1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ de captopril. Velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} ; intervalo de potencial de -0,20 a 1,0 V.

As correntes de pico que precedem a evolução de oxigênio na superfície do eletrodo correspondem a duas etapas irreversíveis de oxidação do captopril que estão relacionadas com a transferência gradual de um elétron para a produção do

dissulfeto correspondente, passando por um intermediário radicalar^{235,236}. Este mesmo intermediário, em meio aquoso, forma o hidrogenossulfito correspondente que provavelmente se refere à segunda onda de oxidação (reação 3)²³⁵. A FIGURA 4.35 representa as reações de oxidação do captopril na superfície do EPC.



FIGURA 4.35. Representação das reações de oxidação do captopril utilizando o EPC.

A dependência das correntes de pico anódico com a raiz quadrada da velocidade de varredura de potenciais (intervalo de 1 a 100 mV s⁻¹) também foi investigada. A existência de uma linearidade entre as correntes de pico anódicas referentes ao segundo processo de oxidação ($E_{\text{pa}} = 700$ mV vs. Ag/AgCl) e a raiz quadrada da velocidade de varredura indica que o processo é difusional para a oxidação do captopril na superfície do eletrodo de pasta de carbono.

4.5.2. Efeito da acidez do meio

O efeito da acidez do meio no intervalo de pH entre 2,5 e 5,6 foi também investigado na oxidação do captopril ($1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹) utilizando uma solução tampão acetato 0,10 mol L⁻¹ e são apresentados na FIGURA 4.36. Como pode ser observado, variando-se o pH de 2,5 a 3,6 ocorre um aumento significativo da corrente de pico anódico para o segundo processo de oxidação. Acima deste valor de pH, a magnitude de corrente volta a diminuir. Esse comportamento pode ser explicado em função das espécies disponíveis para a oxidação em cada valor de pH. Em solução aquosa, a ionização do captopril depende do pH. Em pH 3,6 praticamente todo o H⁺ proveniente do grupo ácido carboxílico se encontra dissociado ($\text{pK}_{\text{a}1} \sim 3,7$)²³⁷⁻²³⁹ sendo a espécie

(II) predominante (FIGURA 4.37). Nesta forma, o captopril pode ser mais facilmente oxidado que na forma neutra e conseqüentemente maiores correntes de pico são observadas.

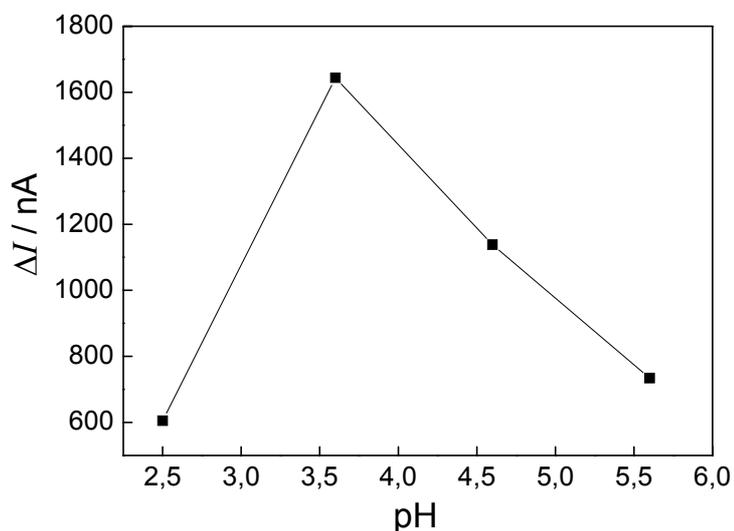


FIGURA 4.36. Efeito do pH na oxidação do captopril utilizando o EPC. Demais condições experimentais descritas na FIGURA 4.34.

Em virtude das maiores magnitudes de corrente de pico observadas, o pH 3,6 foi escolhido para estudos adicionais, também por apresentar um potencial de pico mais catódico (ao redor de 700 mV) que é favorável às condições requeridas em procedimentos de fluxo além de minimizar interferências.

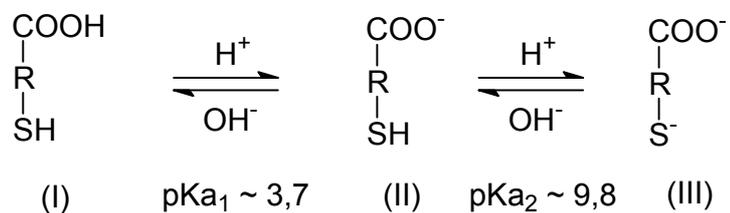


FIGURA 4.37. Representação da distribuição das espécies de captopril em função do pH da solução.

Outros tipos de eletrólitos foram também avaliados como HCl e HClO₄ ambos na concentração de 0,10 mol L⁻¹, porém os resultados obtidos com uma solução tampão acetato 0,10 mol L⁻¹ (pH 3,6) foram mais satisfatórios por apresentar um melhor perfil voltamétrico e por isso este foi escolhido para o restante do trabalho.

4.5.3. Efeito dos parâmetros do sistema FIA

Um voltamograma hidrodinâmico para uma solução de captopril 1,0 x 10⁻² mol L⁻¹ em solução tampão acetato 0,10 mol L⁻¹ (pH 3,6) submetida a vários potenciais de trabalho (+0,60 a +0,75 V vs. Ag/AgCl) é apresentado na FIGURA 4.38. Inicialmente observa-se um pequeno decréscimo da corrente de pico anódica com o aumento do potencial aplicado até +0,65 V (FIGURA 4.38). A partir deste valor, ocorre um aumento significativo da corrente de pico atingindo o valor máximo em +0,70 V, voltando a diminuir a partir deste. É importante salientar que o potencial de +0,70 V é aquele verificado para o segundo pico de oxidação deste fármaco (FIGURA 4.34).

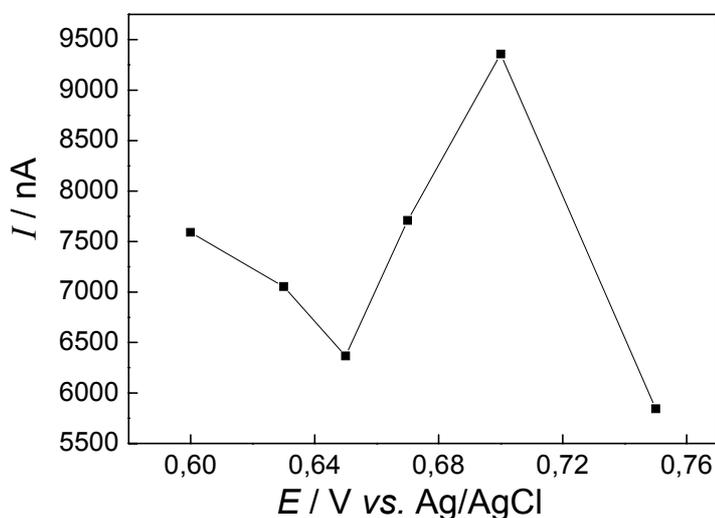


FIGURA 4.38. Efeito do potencial aplicado para a determinação de captopril em um sistema FIA utilizando o EPC.

O efeito do volume de amostragem sobre o sinal analítico foi avaliado no intervalo de 125 a 500 µL para uma solução de captopril 1,0 x 10⁻² mol L⁻¹ em solução tampão acetato 0,10 mol L⁻¹ (pH 3,6). A corrente anódica aumentou com o volume de

amostragem de 125 a 375 μL e manteve-se constante em volumes superiores a 375 μL . Então, um volume de amostragem de 375 μL foi selecionado por mostrar um melhor compromisso entre magnitude do sinal analítico e frequência de amostragem.

O efeito da vazão da solução transportadora sobre a magnitude de corrente anódica foi investigado aplicando o potencial de trabalho de +0,70 V e volume de amostragem de 375 μL . Os resultados mostraram que a corrente aumenta com o aumento da vazão até um valor máximo de 2,0 mL min^{-1} . O aumento da vazão diminui a espessura da camada difusional, auxiliando a difusão das espécies até a superfície do eletrodo, levando assim a um aumento da corrente anódica. A partir de 2,3 mL min^{-1} , o sinal analítico decresce devido a uma maior dispersão da amostra e um menor tempo de residência na célula eletroquímica. Sendo assim, uma vazão de 2,0 mL min^{-1} foi escolhida como valor ótimo por manter uma boa razão entre magnitude do sinal analítico e estabilidade na resposta do eletrodo. O comprimento da bobina helicoidal foi estudado no intervalo de 25 a 150 cm sob as mesmas condições experimentais selecionadas anteriormente. Os resultados obtidos mostraram uma resposta do eletrodo praticamente constante nesse intervalo. Então, um comprimento de 75 cm foi selecionado.

4.5.4. Estudo de interferentes em potencial e teste de recuperação

Foram obtidas recuperações que variam de 93,8% a 101% de captopril usando o procedimento proposto, demonstrando uma boa evidência na determinação de captopril em formulações farmacêuticas.

Para investigar a aplicação analítica deste método, o efeito de excipientes normalmente presentes nas formulações farmacêuticas foi investigado utilizando-se uma solução de captopril $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ na presença de cada excipiente (amido, lactose, ácido esteárico, celulose e dióxido de silício) nas concentrações que podem ser encontradas nas formulações comerciais. Nenhuma interferência no procedimento de injeção de fluxo foi observada até uma concentração de 10 vezes em excesso para esses excipientes.

4.5.5. Curva analítica e aplicações

Após a otimização das condições operacionais para o procedimento FIA proposto, medidas amperométricas foram feitas utilizando-se soluções de captopril em diferentes concentrações a fim de se obter uma curva analítica. A FIGURA 4.39 ilustra os sinais transientes obtidos para diferentes concentrações de captopril.

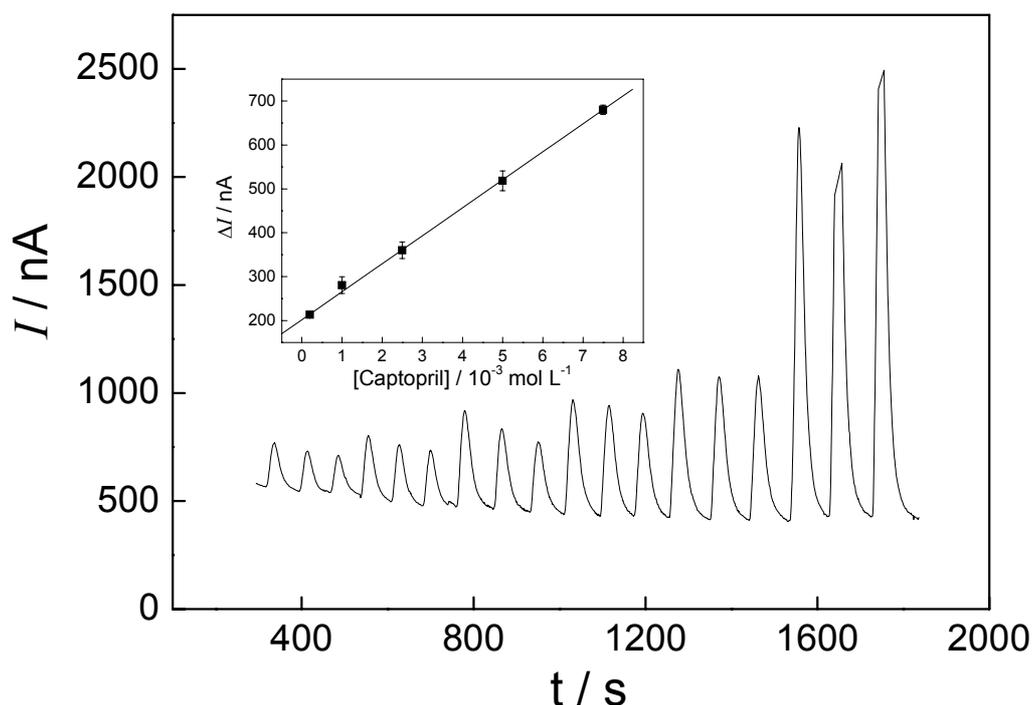


FIGURA 4.39. Sinais transientes obtidos na determinação de captopril em produtos farmacêuticos utilizando um sistema FIA com detecção amperométrica. Da esquerda para a direita, os sinais correspondem a triplicatas das soluções de referência de captopril em ordem crescente de concentração. Em destaque, é mostrada a dependência da concentração de captopril com a corrente.

Os registros dos valores de corrente (a +0,70 V) geraram uma relação linear com as concentrações de captopril no intervalo de $5,0 \times 10^{-4}$ a $7,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ representada pela equação $(I_a / \text{nA}) = 234,7 + 58775C$ onde C é a concentração de captopril em mol L^{-1} com um coeficiente de correlação de 0,9988 ($n = 3$). O limite de

detecção foi de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. O desvio padrão relativo de 5 determinações sucessivas de captopril $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi de 3,7 % e a frequência de amostragem alcançada foi de 42 determinações por hora.

O procedimento proposto foi aplicado na determinação de captopril em formulações farmacêuticas. Concentrações de captopril foram determinadas utilizando-se o método de adições múltiplas de padrão e os resultados comparados com o método oficial²⁰⁹. O método se mostrou simples, rápido e eficiente podendo ser utilizado na determinação de captopril em formulações farmacêuticas. A TABELA 4.6. mostra o resultado para duas amostras comerciais.

TABELA 4.6. Determinação de captopril em produtos farmacêuticos empregando-se o sistema proposto e o método iodimétrico²⁰⁹.

Amostras	Rotulado*	Referência	Proposto	Er ₁ / %	Er ₂ / %
A	12,5	12,6 ± 0,2	13,1 ± 0,2	+ 4,8	+ 4,0
B	25	26,8 ± 0,3	26,6 ± 0,4	+ 6,4	- 0,7

* valores em mg comprimido⁻¹

Er₁ = Proposto vs Referência

Er₂ = Proposto vs Rotulado

CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES

CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES

Os estudos realizados neste trabalho evidenciaram a viabilidade do emprego de eletrodos de pasta de carbono modificados ou não, para a determinação de dipirona, ranitidina, paracetamol e captopril utilizando detecção voltamétrica e amperométrica acoplado a um sistema de análise por injeção em fluxo. Nesses sistemas, foram selecionadas reações seletivas de oxirredução dos analitos sendo os respectivos produtos das reações monitorados.

No primeiro procedimento utilizou-se um EPCM com VO-Salen para a determinação de dipirona. O procedimento mostrou-se bastante promissor para a quantificação desta espécie em formulações farmacêuticas podendo ser facilmente empregado em análises de rotina.

Utilizando o mesmo modificador, realizou-se a determinação voltamétrica de ranitidina nesta oportunidade explorando a reação de redução deste fármaco. Da mesma forma que o procedimento anterior, os resultados foram bastante satisfatórios em termos de sensibilidade, reprodutibilidade e tempo de vida do sensor.

Outro oxidante bastante empregado em reações de oxidação-redução foi empregado neste trabalho como modificador em eletrodos de pasta de carbono. No primeiro procedimento, utilizou-se o hexacianoferrato (III) na forma de um complexo estável com Cu(II) e este incorporado à pasta de carbono. Este sensor foi aplicado na determinação de dipirona apresentando bons resultados. Diferente dos outros procedimentos apresentados nesta tese, a relação de dependência da concentração de dipirona com a corrente de pico foi linear somente quando se aplica a função logarítmica à concentração. Este comportamento se deve provavelmente à cinética de oxidação da dipirona utilizando este modificador.

Outro procedimento foi desenvolvido neste trabalho utilizando o hexacianoferrato (III) imobilizado em uma resina de troca aniônica e esta incorporada à pasta de carbono. Neste sistema foi utilizado detecção amperométrica fixando-se o potencial do eletrodo de trabalho em 700 mV a fim de se estabelecer uma maior velocidade na aquisição dos resultados, quando comparado com os estudos utilizando voltametria linear.

Em uma outra etapa do trabalho, foi investigado o comportamento de um eletrodo de pasta de carbono como um sensor amperométrico para a determinação de captopril em um sistema de análise de injeção de fluxo (FIA). O eletrodo apresentou baixo custo e fácil construção simplesmente misturando-se pó de grafite e óleo mineral. As correntes de oxidação foram monitoradas a +0,70 V vs Ag/AgCl, sendo proporcional às concentrações de captopril. Parâmetros experimentais, como natureza do eletrólito suporte, pH e vazão da solução transportadora, volume de amostragem e interferentes em potencial foram estudados. Foi alcançada uma frequência de amostragem de 42 h⁻¹ sendo o procedimento proposto aplicado satisfatoriamente na determinação de captopril em várias formulações farmacêuticas.

A TABELA 6.1 traz uma sinopse dos resultados obtidos neste trabalho. Em comparação com outros procedimentos relatados na literatura, pode-se dizer que as metodologias aplicadas neste trabalho mostraram-se bastante viáveis no desenvolvimento de procedimentos para a quantificação de diferentes fármacos em produtos farmacêuticos, principalmente com a incorporação de novos componentes ao eletrodo de pasta de carbono.

TABELA 6.1. Sinopse dos resultados obtidos pelos procedimentos propostos

Modificador- Analito	Linearidade / mol L⁻¹	LD / mol L⁻¹	Interferentes*	Tempo de Vida
VO-Salen- Dipirona	9,0 x 10 ⁻⁶ a 2,8 x 10 ⁻⁴	7,2 x 10 ⁻⁶	Ác. Ascórbico	6-12 meses
VO-Salen- Ranitidina	9,9 x 10 ⁻⁵ a 1,0 x 10 ⁻³	6,6 x 10 ⁻⁵	Ác. Ascórbico	6-12 meses
CuHCF-Dipirona	9,9 x 10 ⁻⁶ a 2,4 x 10 ⁻⁴	8,1 x 10 ⁻⁶	Ác. Ascórbico	6-8 meses
RTI-HCF- Paracetamol	2,0 x 10 ⁻⁵ a 6,5 x 10 ⁻⁴	1,6 x 10 ⁻⁵	Não houve	6 meses
FIA-EPC- Captopril	2,0 x 10 ⁻⁴ a 7,5 x 10 ⁻³	9,6 x 10 ⁻⁵	Não houve	1 ano

* foram avaliadas substâncias concomitantes normalmente encontradas em produtos comerciais

CAPÍTULO 6 – ATIVIDADES FUTURAS

CAPÍTULO 6 – ATIVIDADES FUTURAS

Durante o desenvolvimento deste trabalho de tese surgiram algumas perspectivas de trabalhos futuros seguindo esta mesma linha de pesquisa.

Há necessidade de estudos adicionais para maiores esclarecimentos com relação ao mecanismo de funcionamento dos EPCMs, principalmente aqueles contendo o modificador com o complexo [VO-Salen], já que os resultados sugerem que a reação entre o analito e o modificador provavelmente passe por uma etapa prévia à etapa de transferência eletrônica entre eles. Desta forma, a determinação da ordem de reação pode ser uma forma de diagnosticar este tipo de mecanismo.

Outras técnicas eletroquímicas (voltametria de pulso diferencial e voltametria de onda quadrada) poderiam ser empregadas utilizando os EPCMs propostos nesta tese de doutorado. Estas técnicas são mais sensíveis que a voltametria cíclica e linear e permitiriam a determinação dos fármacos não só em amostras farmacêuticas como também em amostras contendo baixos teores destes analitos, como sangue e urina, desde que eliminadas possíveis interferências.

O uso de sistemas de análise por injeção em fluxo com detecção eletroquímica utilizando eletrodos de pasta de carbono também deve ser mais amplamente explorado com o uso de modificadores (substâncias eletroativas) incorporados à pasta. Sais e complexos insolúveis em meio aquoso de alguns metais como Mn, V e Ru, tem se mostrado muito eficientes quando adotados para este fim. Esses modificadores podem agir tanto como eletrocatalisadores das reações de oxidação de diferentes fármacos, reduzindo-se os potenciais de trabalho para regiões mais catódicas, ou mesmo serem empregados como mediadores de elétrons, aumentando a magnitude de corrente nos processos reacionais na superfície do eletrodo.

Outro ponto importante a ser estudado futuramente seria a elucidação de um mecanismo de reação para os processos de oxidação e redução dos fármacos aqui estudados, já que existem poucos artigos na literatura sobre esse tipo de investigação. Uma das propostas seria promover uma eletrólise exaustiva num intervalo de potencial que caracterizasse cada processo de oxidação e/ou redução e em seguida submeter alíquotas de soluções do meio reacional a uma análise por ressonância magnética

nuclear (RMN), HPLC ou mesmo HPLS-MS para que fossem caracterizados os produtos de oxidação e /ou redução gerados durante a eletrólise.

CAPÍTULO 7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAPÍTULO 7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BERNADOU, J. & MEUNIER, B., "Biomimetic chemical catalysts in the oxidative activation of drugs". *Adv. Synth. Catal.* **346**(2-3): 171, 2004.
2. O'NEILL, P.M.B., P. G.; HAWLEY, S. R.; WARD, S. A.; PARK, B. K., "4-Aminoquinolines - Past, present and future: a chemical perspective". *Pharmacol. & Ther.* **77**: 29, 1998.
3. GILMAN A.G., R.T.W., NIES A.S., PALMER T. , *As bases farmacológicas da terapêutica*. 8ª. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1991.
4. HALFELD, G., "Uma análise crítica sobre os benefícios e riscos da dipirona". *An. Acad. Nac. Med.* **157**: 40, 1997.
5. LEVY, M., "Epidemiological Evaluation of Rare Side-Effects of Mild Analgesics". *Br. J. Clin. Pharmacol.* **10**: S395, 1980.
6. EDWARDS, J.E. & MCQUAY, H.J., "Dipyron and agranulocytosis: what is the risk?" *Lancet.* **360**(9344): 1438, 2002.
7. LEVY, M.; ZYLBERKATZ, E. & ROSENKRANZ, B., "Clinical Pharmacokinetics of Dipyron and Its Metabolites". *Clin. Pharmacokinet.* **28**(3): 216, 1995.
8. KOROLKOVAS, A., BURCKHALTER, J. H., *Química Farmacêutica*. 1ª ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1988, p. 193.
9. DUECKER, R., "Schmerztherapie durch Pharmaka". **2**: 682, 1981.
10. KHAYYAL, M.T.; SAMAAN, H.A. & GALAL, E.E., "Antagonism of Analgesic Effect of Dipyron by L-Dopa and Its Relation to Brain Amine Concentrations". *J. Pharm. Pharmacol.* **30**(3): 195, 1978.
11. FERREIRA, S.H., "Prostaglandins, pain and inflammation" In: 100 Years of Pyrazolones". **19**: 91, 1986.
12. BROGDEN, R.N., "Pyrazolone Derivatives". *Drugs.* **32**: 60, 1986.
13. LINDNER, E., "Experimental Studies on the Action of a Pyrazolone Derivative on Smooth-Musclcd Organs". *Arzneimittelforschung.* **6**(3): 124, 1956.
14. PEZZA, L.; TUBINO, M.; MELIOS, C.B. & PEZZA, H.R., "Rapid spot test analysis for the detection of dipyron in pharmaceutical preparations". *Anal. Sci.* **16**(3): 313, 2000.
15. BAUTISTA, J.A.G.; ZAMORA, L.L.; MATEO, J.V.G. & MATINEZ-CALATAYUD, J., "Indirect catalytic spectrophotometric determination of metamizol following oxidation by lead dioxide immobilized in a polyester resin bed". *Anal. Lett.* **29**(15): 2667, 1996.
16. MARCOLINO-JUNIOR, L.H.; BONIFACIO, V.G.; FATIBELLO-FILHO, O. & TEIXEIRA, M.F.S., "Flow injection turbidimetric determination of dipyron using a solid-phase reactor containing silver chloride immobilized in a polyester resin". *Quim. Nova.* **28**(5): 783, 2005.

17. MARCOLINO-JUNIOR, L.H.; SOUSA, R.A.; FATIBELLO, O.; MORAES, F.C. & TEIXEIRA, M.F.S., "Flow-injection spectrophotometric determination of dipyrone in pharmaceutical formulations using ammonium molybdate as chromogenic reagent". *Anal. Lett.* **38**(14): 2315, 2005.
18. SAKIARA, K.A.; PEZZA, L.; MELIOS, C.B.; PEZZA, H.R. & DE MORAES, M., "Spectrophotometric determination of dipyrone in pharmaceutical preparations by using chromotropic acid". *Farmaco.* **54**(9): 629, 1999.
19. QURESHI, S.Z.; SAEED, A. & HASAN, T., "Spectrophotometric Determination of Novalgin in Tablets by Use of Potassium Iodate". *Talanta.* **36**(8): 869, 1989.
20. QURESHI, S.Z.; SAEED, A. & HAQUE, S., "Some Observations on a Simple Method for the Determination of Novalgin in Drug Formulations with Iron(III)-1,10-Phenanthroline". *Microchem J.* **41**(3): 362, 1990.
21. PEREIRA, A.V.; PENCKOWSKI, L.; VOSGERAU, M.; SASSA, M.F. & FATIBELLO, O., "Spectrophotometric determination of metamizol in pharmaceutical formulations by flow injection triiodide generation". *Quim. Nova.* **25**(4): 553, 2002.
22. BUHL, F. & HACHULA, U., "Spectrophotometric Determination of Antipyrine, Pyramidon and Novalgin by Using Cerium(III)-Arsenazo(III) Reaction". *Chem. Anal.* **26**(3): 395, 1981.
23. BUHL, F. & HACHULA, U., "Spectrophotometric Determination of Pyramidon and Novalgin in Fe³⁺/2,2'-Dipyridyl and Fe³⁺/1,10-Phenanthroline System". *Chem. Anal.* **29**(4): 483, 1984.
24. LIMA, J.; SA, S.M.O.; SANTOS, J.L.M. & ZAGATTO, E.A.G., "Multi-pumping flow system for the spectrophotometric determination of dipyrone in pharmaceutical preparations". *J. Pharm. Biomed. Anal.* **32**(4-5): 1011, 2003.
25. BORGGAARD, O.K.J., S. S., "Determination of silicon in soil extracts by flow-injection analysis". **110**: 177, 1985.
26. BELAL, F., "Simultaneous Polarographic-Determination of Ascorbic-Acid and Dipyrone in Pharmaceutical Preparations". *Electroanalysis.* **4**(5): 589, 1992.
27. PEREZ-RUIZ, T.; LOZANO, C.M. & TOMAS, V., "Flow-Injection Determination of Novalgin Using Amperometric Detection at a Glassy-Carbon Electrode". *J. Pharm. Biomed. Anal.* **12**(9): 1109, 1994.
28. MATOS, R.C.; ANGNES, L.; ARAUJO, M.C.U. & SALDANHA, T.C.B., "Modified microelectrodes and multivariate calibration for flow injection amperometric simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine, epinephrine and dipyrone". *Analyst.* **125**(11): 2011, 2000.
29. MUNOZ, R.A.A.; MATOS, R.C. & ANGNES, L., "Amperometric determination of dipyrone in pharmaceutical formulations with a flow cell containing gold electrodes from recordable compact discs". *J. Pharm. Sci.* **90**(12): 1972, 2001.
30. MEDEIROS, E.P.; CASTRO, S.L.; FORMIGA, F.M.; SANTOS, S.R.B.; ARAUJO, M.C.U. & NASCIMENTO, V.B., "A flow injection method for biampereometric determination of dipyrone in pharmaceuticals". *Microchem J.* **78**(1): 91, 2004.

31. ALBUQUERQUE, J.S.; SILVA, V.L.; LIMA, F.; ARAUJO, A.N. & MONTENEGRO, M., "Determination of dipyron in pharmaceutical products by flow injection analysis with potentiometric detection". *Anal. Sci.* **19**(5): 691, 2003.
32. PAIXAO, T.; MATOS, R.C. & BERTOTTI, M., "Diffusion layer titration of dipyron in pharmaceuticals at a dual-band electrochemical cell". *Talanta.* **61**(5): 725, 2003.
33. MARCOLINO-JÚNIOR, L.H., BERGAMINI, M. F., TEIXEIRA, M. F. S., CAVALHEIRO, E. T. G., FATIBELLO-FILHO, O. , "Flow injection amperometric determination of dipyron in pharmaceutical formulations using a carbon paste electrode". *Farmaco.* **58**: 999, 2003.
34. HUANG, Y.M.; ZHANG, C.; ZHANG, X.R. & ZHANG, Z.J., "Chemiluminescence analysis of menadione sodium bisulfite and analgin in pharmaceutical preparations and biological fluids". *J. Pharm. Biomed. Anal.* **21**(4): 817, 1999.
35. HUANG, Y.M.; ZHANG, C.; ZHANG, X.R. & ZHANG, Z.J., "A novel chemiluminescence flow-through sensor for the determination of analgin". *Fresenius J. Anal. Chem.* **365**(4): 381, 1999.
36. PEREZ-RUIZ, T.; MARTINEZLOZANO, C.; TOMAS, V. & CARPENA, J., "Flow-Injection Fluorometric-Determination of Novalgin in Pharmaceutical Preparations". *Microchem J.* **47**(3): 296, 1993.
37. HUANG, Y.M.; ZHANG, C.; ZHANG, X.R. & ZHANG, Z.J., "Cerium (IV)-based chemiluminescence analysis of analgin". *Anal. Lett.* **32**(5): 933, 1999.
38. SONG, Z. & ZHANG, N., "In vitro detecting ultra-trace novalgin in medicine and human urine by chemiluminescence". *Talanta.* **60**(1): 161, 2003.
39. ZHAO, L.X.; LI, B.X.; ZHANG, Z.J. & LIN, J.M., "Chemiluminescent flow-through sensor for automated dissolution testing of analgin tablets using manganese dioxide as oxidate". *Sens. Actuator B-Chem.* **97**(2-3): 266, 2004.
40. GEISSLINGER, G.; BOCKER, R. & LEVY, M., "High-performance liquid chromatographic analysis of dipyron metabolites to study their formation in human liver microsomes". *Pharm. Res.* **13**(8): 1272, 1996.
41. AGUNDEZ, J.A.G.; MARTINEZ, C.; MARTIN, R. & BENITEZ, J., "Determination of Aminopyrine, Dipyron and Its Metabolites in Urine by High-Performance Liquid-Chromatography". *Ther. Drug Monit.* **16**(3): 316, 1994.
42. AGUNDEZ, J.A.G. & BENITEZ, J., "Determination of aminopyrine and dipyron metabolites in urine". *Ther. Drug Monit.* **18**(1): 104, 1996.
43. TULAGANOV, A.A.; MIKHALEV, A.V.; OSOKINA, L.M. & ARZAMASTSEV, A.P., "Quantitative-Determination of Impurity Levels in Analgin and Its Injectable Solutions by Hplc". **26**(4): 76, 1992.
44. KATZ, E.Z.; GRANIT, L.; DRAYER, D.E. & LEVY, M., "Simultaneous Determination of Dipyron Metabolites in Plasma by High-Performance Liquid-Chromatography". **305**(2): 477, 1984.
45. EDDINE, N.H.; BRESSOLLE, F.; MANDROU, B. & FABRE, H., "Stability Indicating Assay for Dipyron .2. Separation and Quantitative-Determination of Dipyron

- and Its Degradation Products by High-Performance Liquid-Chromatography". *Analyst*. **107**(1270): 67, 1982.
46. CONNORS, K.A., AMIDON, G. L., STELLA, V. J., *Chemical Stability of Pharmaceuticals*. New York, John Wiley & Sons, 1986.
47. ANVISA. *Risco de intoxicação com analgésicos e antitérmicos*. www.anvisa.gov.br, visitada em 10/01/2007.
48. GOODMAN, L.S., GILMAN, A., *Bases Farmacológicas de la Terapeutica*. 4^a ed., New York, Interamericana, 1974, 191.
49. KISELY, S.R.; LAWRENCE, D. & PRESTON, N.J., "The effect of recalling paracetamol on hospital admissions for poisoning in Western Australia". *Med. J. Aust.* **178**(2): 72, 2003.
50. MARSHALL, P.J.; KULMACZ, R.J. & LANDS, W.E.M., "Constraints on Prostaglandin Biosynthesis in Tissues". *J. Biol. Chem.* **262**(8): 3510, 1987.
51. CEKIC, S.D.; FILIK, H. & APAK, R., "Simultaneous spectrophotometric determination of paracetamol and p-aminophenol in pharmaceutical products with Tiron using dissolved oxygen as oxidant". *J. Anal. Chem.* **60**(11): 1019, 2005.
52. FILIK, H.; HAYVALI, M. & KILIC, E., "Sequential spectrophotometric determination of paracetamol and p-aminophenol with 2,2'-(1,4-phenylenedivinylene) bis-8-hydroxyquinoline as a novel coupling reagent after microwave assisted hydrolysis". *Anal. Chim. Acta.* **535**(1-2): 177, 2005.
53. VERMA, K.K.; GULATI, A.K.; PALOD, S. & TYAGI, P., "Spectrophotometric Determination of Paracetamol in Drug Formulations with 2-Lodylbenzoate". *Analyst*. **109**(6): 735, 1984.
54. ANICETO, C. & FATIBELLO-FILHO, O., "Flow injection spectrophotometric determination of paracetamol (acetaminophen) in pharmaceutical formulations". *Quim. Nova.* **25**(3): 387, 2002.
55. BOUHSAIN, Z.; GARRIGUES, S.; MORALESRUBIO, A. & DELAGUARDIA, M., "Flow injection spectrophotometric determination of paracetamol in pharmaceuticals by means of on-line microwave-assisted hydrolysis and reaction with 8-hydroxyquinoline (8-quinolinol)". *Anal. Chim. Acta.* **330**(1): 59, 1996.
56. MARTINEZ-CALATAYUD, J. & VIVES, S.S., "An Oxidative Column for the Flow-Injection Analysis Spectrophotometric Determination of Paracetamol". *J. Pharm. Biomed. Anal.* **7**(10): 1165, 1989.
57. GEORGIU, C.A. & KOUPPARIS, M.A., "Automated Flow-Injection Spectrophotometric Determination of Para-Substituted and Meta-Substituted Phenols of Pharmaceutical Interest Based on Their Oxidative Condensation with 1-Nitroso-2-Naphthol". *Analyst*. **115**(3): 309, 1990.
58. NAGARAJA, P.; MURTHY, K.C.S. & RANGAPPA, K.S., "Spectrophotometric method for the determination of paracetamol and phenacetin". *J. Pharm. Biomed. Anal.* **17**(3): 501, 1998.

59. PASQUINI, C. & DEFARIA, L.C., "Operator-Free Flow-Injection Analyzer". *J. Autom. Chem.* **13**(4): 143, 1991.
60. VERMA, K.K.; JAIN, A. & TOWNSHEND, A., "Determination of Free and Combined Residual Chlorine by Flow-Injection Spectrophotometry". *Anal. Chim. Acta.* **261**(1-2): 233, 1992.
61. CRIADO, A., CARDENAS, S., GALLEGO, M., VALCARCEL, M., "Conitnuous flow spectrometry determination of paracetamol in pharmaceuticals following continuous microwave assisted alkaline hydrolysis". **53**: 677, 2000.
62. MARTINEZ-CALATAYUD, J.; MARTI, M.C.P. & VIVES, S.S., "Determination of Paracetamol by a Flow Injection-Spectrophotometric Method". *Anal. Lett.* **19**(19-20): 2023, 1986.
63. LAJORANTE, A.F.; PIRES, C.K. & REIS, B.F., "Multicommuted flow system employing pinch solenoid valves and micro-pumps - Spectrophotometric determination of paracetamol in pharmaceutical formulations". *J. Pharm. Biomed. Anal.* **42**(4): 423, 2006.
64. BURAKHAM, R.; DUANGTHONG, S.; PATIMAPORNLEERT, L.; LENGHOR, N.; KASIWAD, S.; SRIVICHAI, L.; LAPANANTNOPPAKHUN, S.; JAKMUNEE, J. & GRUDPAN, K., "Flow-injection and sequential-injection determinations of paracetamol in pharmaceutical preparations using nitrosation reaction". *Anal. Sci.* **20**(5): 837, 2004.
65. KNOCHEN, M.; GIGLIO, J. & REIS, B.F., "Flow-injection spectrophotometric determination of paracetamol in tablets and oral solutions". *J. Pharm. Biomed. Anal.* **33**(2): 191, 2003.
66. SUAREZ, W.T., VIEIRA, H.J., FATIBELLO-FILHO, O., "Determinação de paracetamol em produtos farmacêuticos empregando um sistema de análise por injeção em fluxo com geração de ácido nitroso". *Eclet. Quim.* **30**: 21, 2005.
67. ALKAYER, M.; VALLON, J.J.; PEGON, Y. & BICHON, C., "The Direct Determination of Paracetamol in Biological-Fluids by Ac Polarography". *Anal. Chim. Acta.* **124**(1): 113, 1981.
68. WALASH, M.I.; ELBRASHY, A.M. & SULTAN, M.A., "Polarographic-Behavior and Determination of Paracetamol and Salicylamide after Treatment with Nitrous-Acid". *Mikrochim. Acta.* **113**(1-2): 113, 1994.
69. NAVARRO, I.; GONZALEZ-ARJONA, D.; ROLDAN, E. & RUEDA, M., "Determination of Paracetamol in Tablets and Blood-Plasma by Differential Pulse Voltammetry". *J. Pharm. Biomed. Anal.* **6**(6-8): 969, 1988.
70. WANG, C.Y.; HU, X.Y.; LENG, Z.Z.; YANG, G.J. & JIN, G.D., "Differential pulse voltammetry for determination of paracetamol at a pumice mixed carbon paste electrode". *Anal. Lett.* **34**(15): 2747, 2001.
71. VIEIRA, I.C.; LUPETTI, K.O. & FATIBELLO-FILHO, O., "Determination of paracetamol in pharmaceutical products using a carbon paste biosensor modified with crude extract of zucchini (*Cucurbita pepo*)". *Quim. Nova.* **26**(1): 39, 2003.

72. LAU, O.W.; LUK, S.F. & CHEUNG, Y.M., "Simultaneous Determination of Ascorbic-Acid, Caffeine and Paracetamol in Drug Formulations by Differential-Pulse Voltammetry Using a Glassy-Carbon Electrode". *Analyst*. **114**(9): 1047, 1989.
73. NI, Y.N.; WANG, Y.R. & KOKOT, S., "Differential pulse stripping voltammetric determination of paracetamol and phenobarbital in pharmaceuticals assisted by chemometrics". *Anal. Lett.* **37**(15): 3219, 2004.
74. CHRISTIE, I.; LEEDS, S.; BAKER, M.; KEEDY, F. & VADGAMA, P., "Direct Electrochemical Determination of Paracetamol in Plasma". *Anal. Chim. Acta*. **272**(1): 145, 1993.
75. DANET, A.F.; DAVID, V. & DAVID, I., "Acetaminophen determination by flow injection analysis with biamperometric detection". *Rev. Roum. Chim.* **43**(9): 811, 1998.
76. SILVA, M.L.S.; GARCIA, M.B.Q.; LIMA, J. & BARRADO, E., "Modified tubular electrode in a multi-commutated flow system determination of acetaminophen in blood serum and pharmaceutical formulations". *Anal. Chim. Acta*. **573**: 383, 2006.
77. BOSCH, M.E.; SANCHEZ, A.J.R.; ROJAS, F.S. & OJEDA, C.B., "Determination of paracetamol: Historical evolution". *J. Pharm. Biomed. Anal.* **42**(3): 291, 2006.
78. GALVEZ, A.M.; MATEO, J.V.G. & MARTINEZ-CALATAYUD, J., "Study of various indicating redox systems on the indirect flow-injection biamperometric determination of pharmaceuticals". *Anal. Chim. Acta*. **396**(2-3): 161, 1999.
79. GOYAL, R.N.; GUPTA, V.K.; OYAMA, M. & BACHHETI, N., "Differential pulse voltammetric determination of paracetamol at nanogold modified indium tin oxide electrode". *Electrochem. Commun.* **7**(8): 803, 2005.
80. PEDROSA, V.A.; LOWINSOHN, D. & BERTOTTI, M., "FIA determination of paracetamol in pharmaceutical drugs by using gold electrodes modified with a 3-mercaptopropionic acid monolayer". *Electroanalysis*. **18**(9): 931, 2006.
81. WANG, C.H.; LI, C.Y.; WANG, F. & WANG, C.F., "Covalent modification of glassy carbon electrode with L-cysteine for the determination of acetaminophen". *Microchim. Acta*. **155**(3-4): 365, 2006.
82. GOYAL, R.N. & SINGH, S.P., "Voltammetric determination of paracetamol at C-60-modified glassy carbon electrode". *Electrochim. Acta*. **51**(15): 3008, 2006.
83. PULGARIN, J.A.M. & BERMEJO, L.F.G., "Flow-injection stopped-flow spectrofluorimetric kinetic determination of paracetamol based on its oxidation reaction by hexacyanoferrate(III)". *Anal. Chim. Acta*. **333**(1-2): 59, 1996.
84. ALAPONT, A.G.; ZAMORA, L.L. & MARTINEZ-CALATAYUD, J., "Indirect determination of paracetamol in pharmaceutical formulations by inhibition of the system luminol-H₂O₂-Fe(CN)₆(3-) chemiluminescence". *J. Pharm. Biomed. Anal.* **21**(2): 311, 1999.
85. OLIVA, M.; OLSINA, R.A. & MASI, A.N., "Selective spectrofluorimetric method for paracetamol determination through coumarinic compound formation". *Talanta*. **66**(1): 229, 2005.

-
86. RUENGSIAGOON, W.; LIAWRUANGRATH, S. & TOWNSHEND, A., "Flow injection chemiluminescence determination of paracetamol". *Talanta*. **69**(4): 976, 2006.
 87. SILVA, P., *Farmacologia*. 6^a ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2002.
 88. WEINSTEIN, H.; CHOU, D.; JOHNSON, C.L.; KANG, S. & GREEN, J.P., "Tautomerism and Receptor Action of Histamine - Mechanistic Model". *Mol. Pharmacol.* **12**(5): 738, 1976.
 89. HASSAN, E.M. & BELAL, F., "Kinetic spectrophotometric determination of nizatidine and ranitidine in pharmaceutical preparations". *J. Pharm. Biomed. Anal.* **27**(1-2): 31, 2002.
 90. KELANI, K.M.; AZIZ, A.M.; HEGAZY, M.A. & FATTAH, L.A., "Different spectrophotometric methods for the determination of cimetidine, ranitidine hydrochloride, and famotidine". *Spectr. Lett.* **35**(4): 543, 2002.
 91. PEREZ-RUIZ, T.; MARTINEZ-LOZANO, C.; TOMAS, V.; SANZ, A. & SAHUQUILLO, E., "Flow-injection extraction-spectrophotometric method for the determination of ranitidine in pharmaceutical preparations". *J. Pharm. Biomed. Anal.* **26**(4): 609, 2001.
 92. AHMAD, A.K.S.; KAWY, M.A. & NEBSEN, M., "Spectrophotometric and spectrofluorimetric determination of famotidine and ranitidine using 1,4-benzoquinone reagent". *Anal. Lett.* **32**(7): 1403, 1999.
 93. BASAVIAH, K. & NAGEGOWDA, P., "Determination of ranitidine using potassium iodate and dichlorofluorescein". *Indian J. Chem. Technol.* **11**(1): 11, 2004.
 94. LOPEZ-ERROZ, C.; VINAS, P.; CAMPILLO, N. & HERNANDEZ-CORDOBA, M., "Flow injection fluorimetric method for the determination of ranitidine in pharmaceutical preparations using o-phthalaldehyde". *Analyst.* **121**(8): 1043, 1996.
 95. BARNETT, N.W.; HINDSON, B.J. & LEWIS, S.W., "Determination of ranitidine and salbutamol by flow injection analysis with chemiluminescence detection". *Anal. Chim. Acta.* **384**(2): 151, 1999.
 96. ZHENG, X.W.; QU, Y.J.; ZHANG, Z.J. & ZHANG, C.M., "Highly sensitive electrogenerated chemiluminescence detecting ranitidine based on chemically modifying microenvironment of the chemiluminescence reaction". *Electroanalysis.* **17**(11): 1008, 2005.
 97. ABUZUHRI, A.Z.; HANNOUN, M.; ALKHALIL, S.I. & HASNA, H., "Polarographic Assay of Ranitidine Drugs in Pharmaceutical Formulations". *Anal. Lett.* **21**(10): 1845, 1988.
 98. ALTINOZ, S.; OZER, D.; TEMIZER, A. & BAYRAKTAR, Y., "Determination of Ranitidine in a Biological-Material by Using Differential Pulse Adsorptive Stripping Voltammetry". *Anal. Lett.* **25**(1): 111, 1992.

99. HASSAN, S.S.M.; MAHMOUD, W.H. & OTHMAN, A.H.M., "Determination of ranitidine in pharmaceutical preparations using manual and flow injection potentiometry and spectrophotometry". *Anal. Chim. Acta.* **332**(1): 39, 1996.
100. HUNAG, C.L.; LIU, H.; XIU, R. & XU, D.F., "Studies of an all-solid-state ranitidine sensor". *Sens. Actuator B-Chem.* **66**(1-3): 103, 2000.
101. ISSA, Y.M.; BADAWY, S.S. & MUTAIR, A.A., "Ion-selective electrodes for potentiometric determination of ranitidine hydrochloride, applying batch and flow injection analysis techniques". *Anal. Sci.* **21**(12): 1443, 2005.
102. JAQUE-OLMEDO, P.; TORAL, M.I. & RICHTER, P., "Non segmented continuous flow system with polarographic detection for the determination of ranitidine in pharmaceutical formulations and urine". *Bol. Soc. Chilena Quim.* **43**(1): 45, 1998.
103. MALAGUTTI, A.R. & MAZO, L.H., "Determination of ranitidine in drugs using a mercury coated platinum ultramicroelectrode and hanging mercury dropping electrode". *J. Braz. Chem. Soc.* **14**(2): 274, 2003.
104. PAIXAO, T.; RICHTER, E.M.; BRITO-NETO, J.G.A. & BERTOTTI, M., "Fabrication of a new generator-collector electrochemical micro-device: Characterization and applications". *Electrochem. Commun.* **8**(1): 9, 2006.
105. ZAMARRENO, M.D.; MENDEZ, J.H. & PEREZ, A.S., "Electrochemical Study and Polarographic-Determination of Ranitidine". *Anal. Chim. Acta.* **176**(OCT): 279, 1985.
106. PATEL, N.M.; FURSULE, R.A.; SHIRKHEDKAR, A.A. & TALELE, G.S., "Simultaneous estimation of ranitidine hydrochloride and ondansetron hydrochloride by reverse phase high performance liquid chromatography". *Asian J. Chem.* **18**(4): 2691, 2006.
107. KOKOLETSI, M.X.; KAFKALA, S. & TSIAGANIS, M., "A novel gradient HPLC method for simultaneous determination of ranitidine, methylparaben and propylparaben in oral liquid pharmaceutical formulation". *J. Pharm. Biomed. Anal.* **38**(4): 763, 2005.
108. WONG, C.F.; PEH, K.K. & YUEN, K.H., "Simple high-performance liquid chromatographic method for the determination of ranitidine in human plasma". *J. Chromatogr. B.* **718**(1): 205, 1998.
109. FARTHING, D.; BROUWER, K.L.R.; FAKHRY, I. & SICA, D., "Solid-phase extraction and determination of ranitidine in human plasma by a high-performance liquid chromatographic method utilizing midbore chromatography". *J. Chromatogr. B.* **688**(2): 350, 1997.
110. KELANI, K.M.; AZIZ, A.M.; HEGAZY, M.A. & FATTAH, L.A., "UV-spectrophotometric stability indicating methods for the quantitative determination of cimetidine, famotidine, and ranitidine hydrochloride in the presence of their oxidative derivatives". *Anal. Lett.* **35**(6): 1055, 2002.
111. RANG, H.P., DALE, M.M., RITTER, J.M., *Farmacologia.* 4^a ed., Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan, 1999.

112. ASKAL, H.F., "New Spectrophotometric Methods for Determination of Captopril Bulk Drug and Tablets". *Talanta*. **38**(10): 1155, 1991.
113. ELASHRY, S.M. & IBRAHIM, F.A., "Colorimetric Determination of Captopril in Dosage Forms". *Anal. Lett.* **25**(9): 1657, 1992.
114. EMARA, K.M.; MOHAMED, A.M.I.; ASKAL, H.F. & DARWISH, I.A., "Spectrophotometric Determination of Some Pharmaceutical Compounds Using 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl". *Anal. Lett.* **26**(11): 2385, 1993.
115. JOVANOVIĆ, T.; STANOVIĆ, B. & KORICANAC, Z., "Spectrophotometric Investigation on Complex-Formation of Captopril with Palladium(II) and Its Analytical Application". *J. Pharm. Biomed. Anal.* **13**(3): 213, 1995.
116. KARLICEK, R. & SOLICH, P., "Flow-injection spectrophotometric determination of captopril using on-line solid phase extraction". *Pharmazie*. **53**(8): 549, 1998.
117. SASTRY, C.S.P.; SRINIVAS, K.R. & PRASAD, K., "Spectrophotometric determination of bio-active compounds in commercial samples with nitrous acid and cresyl fast violet acetate". *Anal. Lett.* **29**(8): 1329, 1996.
118. TZANAVARAS, P.D.; THEMELIS, D.G.; ECONOMOU, A. & THEODORIDIS, G., "Reversed flow-injection manifold for the spectrophotometric determination of captopril based on its inhibitory effect on the Co(II)-2,2'-dipyridyl-2-pyridylhydrazone complex formation". *Talanta*. **57**(3): 575, 2002.
119. TZANAVARAS, P.D.; THEMELIS, D.G.; ECONOMOU, A. & THEODORIDIS, G., "Flow and sequential injection manifolds for the spectrophotometric determination of captopril based on its oxidation by Fe(III)". *Microchim. Acta*. **142**(1-2): 55, 2003.
120. PASSAMONTI, P.; BARTOCCI, V. & PUCCIARELLI, F., "Determination of Captopril Using Adsorptive Cathodic Differential Pulse Stripping Voltammetry with the Hmde". *J. Electroanal. Chem.* **230**(1-2): 99, 1987.
121. PASSAMONTI, P.; FERRARO, S.; BARTOCCI, V. & PUCCIARELLI, F., "Voltammetry of Captopril on the Hanging Mercury Drop Electrode". *Electroanalysis*. **3**(8): 847, 1991.
122. SQUELLA, J.A.; LEMUS, I.; BORGES, Y. & NUNEZ-VERGARA, L.J., "Voltammetric Behavior of Captopril and Its Polarographic-Determination in Pharmaceutical Forms". *Bol. Soc. Chilena Quim.* **37**(4): 259, 1992.
123. SARNA, K. & FIJALEK, Z., "Polarographic and voltammetric determination of captopril and captopril-disulphide using a control grow mercury drop electrode". *Chem. Anal.* **42**(6): 863, 1997.
124. STEFAN, R.I.; VAN STADEN, J.F. & ABOUL-ENEIN, H.Y., "A new construction for a potentiometric, enantioselective membrane electrode - its utilization to the S-captopril assay". *Talanta*. **48**(5): 1139, 1999.
125. STEFAN, R.I.; VAN STADEN, J.F. & ABOUL-ENEIN, H.Y., "On-line assay of S-captopril using an amperometric biosensor/sequential injection system". *Anal. Chim. Acta*. **411**(1-2): 51, 2000.

126. GHANDOUR, M.A.; KASIM, E.A.; EL-HATY, M.T. & AHMED, M.M., "Cathodic stripping voltammetry of the antihypertensive drug captopril in both aqueous and biological media". *Anal. Lett.* **35**(2): 239, 2002.
127. PALOMEQUE, M.E. & BAND, B.S.F., "Flow injection biamperometric determination of captopril". *J. Pharm. Biomed. Anal.* **30**(3): 547, 2002.
128. STEFAN, R.I.; VAN STADEN, J.F.; MULAUDZI, L.V. & ABOUL-ENEIN, H.Y., "On-line simultaneous determination of S- and R-perindopril using amperometric biosensors as detectors in flow systems". *Anal. Chim. Acta.* **467**(1-2): 189, 2002.
129. IOANNIDES, X.; ECONOMOU, A. & VOULGAROPOULOS, A., "A study of the determination of the hypertensive drug captopril by square wave cathodic adsorptive stripping voltammetry". *J. Pharm. Biomed. Anal.* **33**(2): 309, 2003.
130. SIANGPROH, W.; NGAMUKOT, P. & CHAILAPAKUL, O., "Electrochemical determination of captopril at boron-doped diamond thin film electrode applied to a flow injection system". *Sens. Actuator B-Chem.* **91**(1-3): 60, 2003.
131. PARHAM, H. & ZARGAR, B., "Square-wave voltammetric (SWV) determination of Captopril in reconstituted serum and pharmaceutical formulations". *Talanta.* **65**(3): 776, 2005.
132. SHAHROKHIAN, S.; KARIMI, M. & KHAJEHSHARIFI, H., "Carbon-paste electrode modified with cobalt-5-nitroisalophen as a sensitive voltammetric sensor for detection of captopril". *Sens. Actuator B-Chem.* **109**(2): 278, 2005.
133. ZIYATDINOVA, G.K.; BUDNIKOV, G.K. & POGOREL'TSEV, V.I., "Determination of captopril in pharmaceutical forms by stripping voltammetry". *J. Anal. Chem.* **61**(8): 798, 2006.
134. AL-GHANNAM, S.M.; EL-BRASHY, A.M. & AL-FARHAN, B.S., "Fluorimetric determination of some thiol compounds in their dosage forms". *Farmaco.* **57**(8): 625, 2002.
135. XINRONG, Z.; BAEYENS, W.R.G.; VANDERWEKEN, G.; CALOKERINOS, A.C. & NAKASHIMA, K., "Chemiluminescence Analysis of Captopril - Comparison between Luminol and Rhodamine B-Sensitized Cerium(Iv) Methods". *J. Pharm. Biomed. Anal.* **13**(4-5): 425, 1995.
136. ZHANG, X.R.; BAEYENS, W.R.G.; VANDERWEKEN, G.; CALOKERINOS, A.C. & NAKASHIMA, K., "Chemiluminescence Determination of Captopril Based on a Rhodamine-B Sensitized Cerium(Iv) Method". *Anal. Chim. Acta.* **303**(1): 121, 1995.
137. ZHANG, Z.D.; BAEYENS, W.R.G.; ZHANG, X.R. & VANDERWEKEN, G., "Chemiluminescence flow-injection analysis of captopril applying a sensitized rhodamine 6G method". *J. Pharm. Biomed. Anal.* **14**(8-10): 939, 1996.
138. LI, Y.H.; ZHANG, A.H.; DU, J.X. & LU, J.R., "Flow injection chemiluminescence determination of thiol-containing drugs based on a quinine-sensitized permanganate reaction". *Anal. Lett.* **36**(4): 871, 2003.

139. SONG, Z.H.; HOU, S.; YU, X.Y.; XIE, X.F. & SHAO, X.D., "In vitro monitoring of picogram levels of captopril in human urine using flow injection chemiluminescence with immobilized reagent technique". *Anal. Lett.* **39**(6): 1115, 2006.
140. GOICOLEA, M.A.; DEBALUGERA, Z.G.; PORTELA, M.J. & BARRIO, R., "Evaluation of Amperometric Detection at a Glassy-Carbon Electrode for the Liquid-Chromatographic Determination of Antihypertensive Substances". *Analyst.* **119**(2): 269, 1994.
141. BALD, E.; SYPNIEWSKI, S.; DRZEWOSKI, J. & STEPIEN, M., "Application of 2-halopyridinium salts as ultraviolet derivatization reagents and solid-phase extraction for determination of captopril in human plasma by high-performance liquid chromatography". *J. Chromatogr. B-Biomed. Appl.* **681**(2): 283, 1996.
142. OUYANG, J.; BAEYENS, W.R.G.; DELANGHE, J.; VAN DER WEKEN, G.; VAN DAELE, W.; DE KEUKELEIRE, D. & CAMPANA, A.M.G., "Chemiluminescence-based liquid chromatographic determination of hydrochlorothiazide and captopril". *Anal. Chim. Acta.* **386**(3): 257, 1999.
143. PIMENTA, A.M.; ARAUJO, A.N. & MONTENEGRO, M., "Sequential injection analysis of captopril based on colorimetric and potentiometric detection". *Anal. Chim. Acta.* **438**(1-2): 31, 2001.
144. ECONOMOU, A.; THEMELIS, D.G.; THEODORIDIS, G. & TZANAVARAS, P.D., "Sensitive determination of captopril by flow injection analysis with chemiluminescence detection based on the enhancement of the luminol reaction". *Anal. Chim. Acta.* **463**(2): 249, 2002.
145. MOSES, P.R.; WIER, L. & MURRAY, R.W., "Chemically Modified Tin Oxide Electrode". *Anal. Chem.* **47**(12): 1882, 1975.
146. COX, J.A.; TESS, M.E. & CUMMINGS, T.E., "Electroanalytical methods based on modified electrodes: A review of recent advances". *Rev. Anal. Chem.* **15**(3): 173, 1996.
147. GILMARTIN, M.A.T. & HART, J.P., "Sensing with Chemically and Biologically Modified Carbon Electrodes". *Analyst.* **120**(4): 1029, 1995.
148. KALCHER, K.; KAUFFMANN, J.M.; WANG, J.; SVANCARA, I.; VYTRAS, K.; NEUHOLD, C. & YANG, Z., "Sensors Based on Carbon-Paste in Electrochemical Analysis - a Review with Particular Emphasis on the Period 1990-1993". *Electroanal.* **7**(1): 5, 1995.
149. WANG, J., "Modified Electrodes for Electrochemical Sensors". *Electroanal.* **3**(4-5): 255, 1991.
150. SOUZA, M.D.B., "Chemically modified electrodes applied to electroanalysis: A brief presentation". *Quim. Nova.* **20**(2): 191, 1997.
151. WALCARIUS, A., "Analytical applications of silica-modified electrodes - A comprehensive review". *Electroanal.* **10**(18): 1217, 1998.

152. ULAKHOVICH, N.A.; MEDYANTSEVA, E.P. & BUDNIKOV, G.K., "Carbon-Paste Electrode as a Sensor in Voltammetric Analysis". *J. Anal. Chem.* **48**(6): 682, 1993.
153. LINDQUIST, J., "Study of 7 Different Carbon Paste Electrodes". *J. Electroanal. Chem.* **52**(1): 37, 1974.
154. ADAMS, R.N., "Carbon Paste Electrodes". *Anal. Chem.* **30**(9): 1576, 1958.
155. OLSON, C. & ADAMS, R.N., "Carbon Paste Electrodes Application to Anodic Voltammetry". *Anal. Chim. Acta.* **22**(6): 582, 1960.
156. OLSON, C. & ADAMS, R.N., "Carbon Paste Electrodes Application to Cathodic Reductions and Anodic Stripping Voltammetry". *Anal. Chim. Acta.* **29**(4): 358, 1963.
157. RICE, M.E.; GALUS, Z. & ADAMS, R.N., "Graphite Paste Electrodes - Effects of Paste Composition and Surface-States on Electron-Transfer Rates". *J. Anal. Chem.* **143**(1-2): 89, 1983.
158. KUWANA, T. & FRENCH, W.G., "Electrooxidation or Reduction of Organic Compounds into Aqueous Solutions Using Carbon Paste Electrode". *Anal. Chem.* **36**(1): 241, 1964.
159. SCHULTZ, F.A. & KUWANA, T., "Electrochemical Studies of Organic Compounds Dissolved in Carbon-Paste Electrodes". *J. Electroanal. Chem.* **10**(2): 95, 1965.
160. KALCHER, K., "Chemically Modified Carbon Paste Electrodes in Voltammetric Analysis". *Electroanal.* **2**(6): 419, 1990.
161. LAMACHE, M. & BAUER, D., "Chronoamperometric Study of Carbon Paste Electrode with Electrolyte Binder and Insoluble Electroactive Solid". *J. Electroanal. Chem.* **79**(2): 359, 1977.
162. RAVICHANDRAN, K. & BALDWIN, R.P., "Chemically Modified Carbon Paste Electrodes". *J. Anal. Chem.* **126**(1-3): 293, 1981.
163. MESARIC, S. & DAHMEN, E., "Ion-Selective Carbon-Paste Electrodes for Halides and Silver(I) Ions". *Anal. Chim. Acta.* **64**(3): 431, 1973.
164. MATUSZEWSKI, W. & TROJANOWICZ, M., "Graphite Paste-Based Enzymatic Glucose Electrode for Flow-Injection Analysis". *Analyst.* **113**(5): 735, 1988.
165. WANG, J. & LIN, M.S., "Mixed Plant-Tissue Carbon Paste Bioelectrode". *Anal. Chem.* **60**(15): 1545, 1988.
166. GORTON, L., "Carbon-Paste Electrodes Modified with Enzymes, Tissues, and Cells". *Electroanal.* **7**(1): 23, 1995.
167. OUNGPIPAT, W.; ALEXANDER, P.W. & SOUTHWELLKEELY, P., "A Reagentless Amperometric Biosensor for Hydrogen-Peroxide Determination Based on Asparagus Tissue and Ferrocene Mediation". *Anal. Chim. Acta.* **309**(1-3): 35, 1995.
168. OCHIAI, E., "Laboratory Program for Bioinorganic Chemistry". *J. Chem. Educ.* **50**(9): 610, 1973.

-
169. KLEVAN, L.; PEONE, J. & MADAN, S.K., "Molecular-Oxygen Adducts of Transition-Metal Complexes - Structure and Mechanism". *J. Chem. Educ.* **50**(10): 670, 1973.
170. SUMMERVILLE, D.A.; JONES, R.D.; HOFFMAN, B.M. & BASOLO, F., "Assigning Oxidation-States to Some Metal Dioxygen Complexes of Biological Interest". *J. Chem. Educ.* **56**(3): 157, 1979.
171. WESCHLER, C.J.; HOFFMAN, B.M. & BASOLO, F., "Synthetic Oxygen Carrier - Dioxygen Adduct of a Manganese Porphyrin". *J. Am. Chem. Soc.* **97**(18): 5278, 1975.
172. APPLETON, T.G., "Oxygen-Uptake by a Cobalt(li) Complex - Undergraduate Experiment". *J. Chem. Educ.* **54**(7): 443, 1977.
173. NISHIDE, H.; SODA, E.; MIZUMA, H. & TSUCHIDA, E., "An oxygen-releasing device: reversible oxygen release from a cobalt chelate carbon composite in response to an applied voltage". *J. Mater. Chem.* **7**(10): 2151, 1997.
174. LABUDA, J.; FENIKOVA, L. & DURACKOVA, Z., "Cyclic voltammetry and bioassay of some superoxide dismutase mimetic copper complex compounds". *Bioelectrochem. Bioenerg.* **44**(1): 31, 1997.
175. YING, M.; YUAN, R.; LI, Z.Q.; SONG, Y.Q.; LI, W.X.; LIN, H.G.; SHEN, G.L. & YU, R.Q., "Thiocyanate-selective electrode based on cobalt(II) complexes of pyrazolone heterocyclic Schiff bases". *Fresenius J. Anal. Chem.* **361**(5): 437, 1998.
176. YUAN, R.; CHAI, Y.Q.; LIU, D.; GAO, D.; LI, J.Z. & YU, R.Q., "Schiff-Base Complexes of Cobalt(li) as Neutral Carriers for Highly Selective Iodide Electrodes". *Anal. Chem.* **65**(19): 2572, 1993.
177. YUAN, R.; SONG, Y.Q.; CHAI, Y.Q.; XIA, S.X.; ZHONG, Q.Y.; YI, B.; YING, M.; SHEN, G.L. & YU, R.Q., "Design of Schiff base complexes of Co(II) for the preparation of iodide-selective polymeric membrane electrodes". *Talanta.* **48**(3): 649, 1999.
178. GUO, P. & WONG, K.Y., "Enantioselective electrocatalytic epoxidation of olefins by chiral manganese Schiff-base complexes". *Electrochem. Commun.* **1**(11): 559, 1999.
179. LOSADA, J.; DEL PESO, I. & BEYER, L., "Redox and electrocatalytic properties of electrodes modified by films of polypyrrole nickel(II) Schiff-base complexes". *J. Electroanal. Chem.* **447**(1-2): 147, 1998.
180. LOSADA, J.; DELPESO, I.; BEYER, L.; HARTUNG, J.; FERNANDEZ, V. & MOBIUS, M., "Electrocatalytic Reduction of O₂ and Co₂ with Electropolymerized Films of Polypyrrole Cobalt(li) Schiff-Base Complexes". *J. Electroanal. Chem.* **398**(1-2): 89, 1995.
181. VILAS-BOAS, M.; FREIRE, C.; DE CASTRO, B. & HILLMAN, A.R., "Electrochemical characterization of a novel salen-type modified electrode". *J. Phys. Chem. B.* **102**(43): 8533, 1998.

182. LIU, G.D.; LI, Z.Q.; HUAN, S.S.; SHEN, G.L. & YU, R.Q., "Electro-catalytic oxidation of ascorbic acid at a cobalt-salen polymer modified electrode and analytical applications". *Anal. Lett.* **33**(2): 175, 2000.
183. WON, M.S.; MOON, D.W. & SHIM, Y.B., "Determination of mercury and silver at a modified carbon paste electrode containing glyoxal bis(2-hydroxyanil)". *Electroanal.* **7**(12): 1171, 1995.
184. WANG, J.; ZHANG, X.J. & PRAKASH, M., "Glucose microsensors based on carbon paste enzyme electrodes modified with cupric hexacyanoferrate". *Anal. Chim. Acta.* **395**(1-2): 11, 1999.
185. SHANKARAN, D.R. & NARAYANAN, S.S., "Mechanically immobilized copper hexacyanoferrate modified electrode for electrocatalysis and amperometric determination of glutathione". *Bull. Korean Chem. Soc.* **22**(8): 816, 2001.
186. MORTIMER, R.J.; BARBEIRA, P.J.S.; SENE, A.F.B. & STRADIOTTO, N.R., "Potentiometric determination of potassium cations using a nickel(II) hexacyanoferrate-modified electrode". *Talanta.* **49**(2): 271, 1999.
187. WALCARIUS, A. & BESSIERE, J., "Silica-modified carbon paste electrode for copper determination in ammoniacal medium". *Electroanal.* **9**(9): 707, 1997.
188. ARRIGAN, D.W.M., "Voltammetric Determination of Trace-Metals and Organics after Accumulation at Modified Electrodes". *Analyst.* **119**(9): 1953, 1994.
189. GAO, Z.Q.; LI, P.B. & ZHAO, Z.F., "Voltammetric Determination of Traces of Cobalt(II) with a Chemically Modified Carbon Paste Electrode". *Fresenius. J. Anal. Chem.* **339**(3): 137, 1991.
190. DIEWALD, W.; KALCHER, K.; NEUHOLD, C.; CAI, X. & MAGEE, R.J., "Voltammetric Behavior of Thallium(III) on Carbon Paste Electrodes Chemically Modified with an Anion-Exchanger". *Anal. Chim. Acta.* **273**(1-2): 237, 1993.
191. CAI, X.; KALCHER, K.; DIEWALD, W.; NEUHOLD, C. & MAGEE, R.J., "Voltammetric Determination of Trace Amounts of Mercury with a Carbon Paste Electrode Modified with an Anion-Exchanger". *Fresenius. J. Anal. Chem.* **345**(1): 25, 1993.
192. NEUHOLD, C.; KALCHER, K.; DIEWALD, W.; CAI, X.H. & RABER, G., "Voltammetric Determination of Nitrate with a Modified Carbon-Paste Electrode". *Electroanal.* **6**(3): 227, 1994.
193. HELMS, I. & SCHOLZ, F., "A reactive electrode (reactrode) for the voltammetric determination of heavy metals in laboratories and for use as a passive monitor in remote analysis". *Fresenius. J. Anal. Chem.* **356**(3-4): 237, 1996.
194. KIM, S.H. & YEO, I.H., "Spectroelectrochemical studies on the oxidation pathway of epinephrine". *Anal. Sci.* **13**: 321, 1997.
195. NISTOR, C.; EMNEUS, J.; GORTON, L. & CIUCU, A., "Improved stability and altered selectivity of tyrosinase based graphite electrodes for detection of phenolic compounds". *Anal. Chim. Acta.* **387**(3): 309, 1999.

196. WOLLENBERGER, U. & NEUMANN, B., "Quinoprotein glucose dehydrogenase modified carbon paste electrode for the detection of phenolic compounds". *Electroanal.* **9**(5): 366, 1997.
197. WANG, J. & WALCARIUS, A., "Zeolite-modified carbon paste electrode for selective monitoring of dopamine". *J. Electroanal. Chem.* **407**(1-2): 183, 1996.
198. ZOU, Y.D. & MO, J.Y., "Ensembles of carbon paste microelectrodes". *Anal. Chim. Acta.* **382**(1-2): 145, 1999.
199. HERNANDEZ, L.; HERNANDEZ, P.; BLANCO, M.H. & SANCHEZ, M., "Determination of Copper(II) with a Carbon Paste Electrode Modified with an Ion-Exchange Resin". *Analyst.* **113**(1): 41, 1988.
200. HERNANDEZ, L.; MELGUIZO, J.M.; BLANCO, M.H. & HERNANDEZ, P., "Determination of Cadmium(II) with a Carbon Paste Electrode Modified with an Ion-Exchange Resin". *Analyst.* **114**(3): 397, 1989.
201. WU, W.S.; UDDIN, M.S. & CHI, H., "Cation-Exchange Based Chemically-Modified Electrodes". *Bull. Electrochem.* **11**(8): 402, 1995.
202. LUPETTI, K.O.; VIEIRA, I.C.; VIEIRA, H.J. & FATIBELLO, O., "Electroregenerable anion-exchange resin with triiodide carbon paste electrode for the voltammetric determination of adrenaline". *Analyst.* **127**(4): 525, 2002.
203. BRETT, A.M.O., BRETT, C.M.A., *Electroquímica: Princípios, Métodos e Aplicações*. New York, Oxford University Press Inc., 1996.
204. RUZICKA, J., HANSEN, E.H., *Flow Injection Analysis*. New York, John Wiley, 1988.
205. REIS, B.F., GINÉ, M.F., KRONKA, E.A.M., "A análise química por injeção em fluxo contínuo". *Quim. Nova.* **12**: 82, 1989.
206. BERGAMIN, H.; REIS, B.F. & ZAGATTO, E.A.G., "New Device for Improving Sensitivity and Stabilization in Flow-Injection Analysis". *Anal. Chim. Acta.* **97**(2): 427, 1978.
207. SEANGPRASERTKIJ, R. & RIECHEL, T.L., "Synthesis of [Bis(Salicylaldehyde) Ethylenediiminato]Diphenylvanadium(IV) Methanol, a Novel Organovanadium Compound". *Inorg. Chem.* **25**(18): 3121, 1986.
208. ZAMIAN, J.R. & DOCKAL, E.R., "Tetradentate Schiff base oxovanadium(IV) complexes". *Transit. Met. Chem.* **21**(4): 370, 1996.
209. *Farmacopéia Brasileira*. 3ª ed., São Paulo, Atheneu Editora, 1977.
210. AYRAULT, S.; JIMENEZ, B.; GARNIER, E.; FEDOROFF, M.; JONES, D.J. & LOOS-NESKOVIC, C., "Sorption mechanisms of cesium on (Cu₂FeII)-Fe-II(CN)₆ and Cu-3(II)[Fe-III(CN)₆](2): Hexacyanoferrates and their relation to the crystalline structure". *J. Solid State Chem.* **141**(2): 475, 1998.
211. ETCHEVERRY, S.B. & WILLIAMS, P.A.M., "Interactions between vanadyl(IV) cation and the system creatine, creatine phosphate and creatinine". *J. Inorg. Biochem.* **70**(2): 113, 1998.

212. NECHAY, B.R.; NANNINGA, L.B. & NECHAY, P.S.E., "Vanadyl (IV) and Vanadate (V) Binding to Selected Endogenous Phosphate, Carboxyl, and Amino Ligands - Calculations of Cellular Vanadium Species Distribution". *Arch. Biochem. Biophys.* **251**(1): 128, 1986.
213. BALKUS, K.J.; KHANMAMEDOVA, A.K.; DIXON, K.M. & BEDIQUI, F., "Oxidations catalyzed by zeolite ship-in-a-bottle complexes". *Appl. Catal. A-Gen.* **143**(1): 159, 1996.
214. BASTOS, M.B.R.; MOREIRA, J.C. & FARIAS, P.A.M., "Adsorptive stripping voltammetric behaviour of UO₂(II) complexed with the Schiff base N,N'-ethylenebis(salicylideneimine) in aqueous 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine ethanesulfonic acid medium". *Anal. Chim. Acta.* **408**(1-2): 83, 2000.
215. TOBIAS, P.S. & KALLEN, R.G., "Kinetics and Equilibria of Reaction of Pyridoxal 5'-Phosphate with Ethylenediamine to Form Schiff-Bases and Cyclic Geminal Diamines - Evidence for Kinetically Competent Geminal Diamine Intermediates in Transamination Sequences". *J. Am. Chem. Soc.* **97**(22): 6530, 1975.
216. AUDEBERT, P.; HAPIOT, P.; CAPDEVIELLE, P. & MAUMY, M., "Electrochemical Polymerization of Several Salen-Type Complexes - Kinetic-Studies in the Microsecond Time Range". *J. Electroanal. Chem.* **338**(1-2): 269, 1992.
217. LIU, G.D.; LI, Z.Q.; HUAN, S.S.; SHEN, G.L. & YU, R.Q., "Electro-catalytic oxidation of ascorbic acid at a cobalt-salen polymer modified electrode and analytical applications". *Anal. Lett.* **33**(2): 175, 2000.
218. GOLDSBY, K.A.; BLAHO, J.K. & HOFERKAMP, L.A., "Oxidation of Nickel(II) Bis(Salicylaldimine) Complexes - Solvent Control of the Ultimate Redox Site". *Polyhedron.* **8**(1): 113, 1989.
219. BERGAMINI, M.F.; TEIXEIRA, M.F.S.; DOCKAL, E.R.; BOCCHI, N. & CAVALHEIRO, E.T.G., "Evaluation of different voltammetric techniques in the determination of amoxicillin using a carbon paste electrode modified with [N,N'-ethylenebis(salicylideneaminato)] oxovanadium(IV)". *J. Electrochem. Soc.* **153**(5): E94, 2006.
220. TEIXEIRA, M.F.S.; DOCKAL, E.R. & CAVALHEIRO, E.T.G., "Sensor for cysteine based on oxovanadium(IV) complex of Salen modified carbon paste electrode". *Sens. Actuator B-Chem.* **106**(2): 619, 2005.
221. TEIXEIRA, M.F.S.; MARINO, G.; DOCKAL, E.R. & CAVALHEIRO, E.T.G., "Voltammetric determination of pyridoxine (Vitamin B-6) at a carbon paste electrode modified with vanadyl(IV)-Salen complex". *Anal. Chim. Acta.* **508**(1): 79, 2004.
222. TEIXEIRA, M.F.S., MARCOLINO-JUNIOR, L.H., BERGAMINI, M.F., FATIBELLO-FILHO, O., *54th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry*. São Pedro, Brazil, 2003.
223. MALAGUTTI, A.R. & MAZO, L.H., "Determination of ranitidine in drugs using a mercury coated platinum ultramicroelectrode and hanging mercury dropping electrode". *J. Braz. Chem. Soc.* **14**(2): 274, 2003.

224. SHANKARAN, D.R. & NARAYANAN, S.S., "Mechanically immobilized copper hexacyanoferrate modified electrode for electrocatalysis and amperometric determination of glutathione". *Bull. Korean Chem. Soc.* **22**(8): 816, 2001.
225. KULESZA, P.J.; MALIK, M.A.; BERRETTONI, M.; GIORGETTI, M.; ZAMPONI, S.; SCHMIDT, R. & MARASSI, R., "Electrochemical charging, counterion accommodation, and spectrochemical identity of microcrystalline solid cobalt hexacyanoferrate". *J. Phys. Chem. B.* **102**(11): 1870, 1998.
226. KULESZA, P.J.; MALIK, M.A.; SCHMIDT, R.; SMOLINSKA, A.; MIECZNIKOWSKI, K.; ZAMPONI, S.; CZERWINSKI, A.; BERRETTONI, M. & MARASSI, R., "Electrochemical preparation and characterization of electrodes modified with mixed hexacyanoferrates of nickel and palladium". *J. Electroanal. Chem.* **487**(1): 57, 2000.
227. VITTAL, R.; GOMATHI, H. & RAO, G.P., "Influence of a cationic surfactant on the modification of electrodes with nickel hexacyanoferrate surface films". *Electrochim. Acta.* **45**(13): 2083, 2000.
228. CUI, X.P.; HONG, L. & LIN, X.Q., "Electrochemical preparation, characterization and application of electrodes modified with hybrid hexacyanoferrates of copper and cobalt". *J. Electroanal. Chem.* **526**(1-2): 115, 2002.
229. GARCIA-JARENO, J.J.; SANMATIAS, A.; BENITO, D.; NAVARRO-LABOULAIS, J. & VICENTE, F., "The role of inner counterions within PB films during electrochemical processes". *Int. J. Inorg. Mater.* **1**(5-6): 343, 1999.
230. WANG, P.; JING, X.Y.; ZHANG, W.Y. & ZHU, G.Y., "Renewable manganous hexacyanoferrate-modified graphite organosilicate composite electrode and its electrocatalytic oxidation of L-cysteine". *J. Solid State Electrochem.* **5**(6): 369, 2001.
231. ERGUN, H.; FRATTARELLI, D.A.C. & ARANDA, J.V., "Characterization of the role of physicochemical factors on the hydrolysis of dipyrone". *J. Pharm. Biomed. Anal.* **35**(3): 479, 2004.
232. BRILLAS, E.; SIRE, I.; ARIAS, C.; CABOT, P.L.; CENTELLAS, F.; RODRIGUEZ, R.M. & GARRIDO, J.A., "Mineralization of paracetamol in aqueous medium by anodic oxidation with a boron-doped diamond electrode". *Chemosphere.* **58**(4): 399, 2005.
233. WANGFUENGGANAGUL, N. & CHAILAPAKUL, O., "Electrochemical analysis of acetaminophen using a boron-doped diamond thin film electrode applied to flow injection system". *J. Pharm. Biomed. Anal.* **28**(5): 841, 2002.
234. WATERSTON, K.; WANG, J.W.J.; BEJAN, D. & BUNCE, N.J., "Electrochemical waste water treatment: Electrooxidation of acetaminophen". *J. Appl. Electrochem.* **36**(2): 227, 2006.
235. LIEDER, M. & SCHLAPFER, C.W., "Novel preparation and electrochemical study of the dithiocarbamate polymer/thiuram disulfide redox system". *J. Appl. Electrochem.* **31**(12): 1321, 2001.

-
236. RADOVAN, C. & MANEA, F., "Determination of sodium diethyldithiocarbamate in water by anodic voltammetry using a boron-doped diamond electrode". *Electroanalysis*. **19**(1): 91, 2007.
237. NIKOLIC, K. & VELASEVIC, K., "Conductometric Determination of Captopril". *Pharmazie*. **44**(2): 155, 1989.
238. SIANGPROH, W.; NGAMUKOT, P. & CHAILAPAKUL, O., "Electrochemical determination of captopril at boron-doped diamond thin film electrode applied to a flow injection system". *Sens. Actuator B-Chem*. **91**(1-3): 60, 2003.
239. TERASHIMA, C.; RAO, T.N.; SARADA, B.V.; KUBOTA, Y. & FUJISHIMA, A., "Direct electrochemical oxidation of disulfides at anodically pretreated boron-doped diamond electrodes". *Anal. Chem*. **75**(7): 1564, 2003.