Universidade de São Paulo
Instituto de Química

***DESENVOLVIMENTO DE CÉLULA
ESPECTROELETROQUÍMICA EM FLUXO E SUA
APLICAÇÃO ANALÍTICA AO ESTUDO E A
DETERMINAÇÃO DE DERIVADOS FENOTIAZÍNICOS***

QUÍMICA ANALÍTICA

DANIELA DANIEL

TESE DE DOUTORADO

ORIENTADOR: PROF. DR. IVANO G. R. GUTZ

2004

SÃO PAULO

*“Desenvolvimento de célula espectroeletroquímica em
fluxo e sua aplicação analítica ao estudo e a
determinação de derivados fenotiazínicos”*

DANIELA DANIEL

Tese de Doutorado submetida ao Instituto de Química da Universidade
de São Paulo como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de
Doutor em Química – Área: Química Analítica.

Aprovado(a) por:

Prof. Dr. IVANO GEBHARDT ROLF GUTZ
IQ – USP

(Orientador e Presidente)

Prof. Dr. FABIO RODRIGO PIOVEZANI ROCHA
IQ – USP

Profa. Dra. PAOLA CORIO
IQ – USP

Prof. Dr. NELSON RAMOS STRADIOTTO
IQ – UNESP, Araraquara

Prof. Dr. JARBAS JOSÉ RODRIGUES ROHWEDDER
IQ – UNICAMP

SÃO PAULO
17 de SETEMBRO 2004

“Uma criança sempre pode ensinar 3 coisas a um adulto: a ficar contente sem motivo, a estar sempre ocupado com alguma coisa e a saber exigir, com toda, força aquilo que deseja.”

Ao meu filho, Ivan, por me ensinar, entre outras coisas, toda a amplitude e dimensão que podem ter as palavras amor e mãe.

AGRADECIMENTOS

Aos meus queridos pais, Armando e Edileuza, por me darem asas e raízes.

À minha família, pela certeza de poder contar com vocês no momento e no que for preciso.

Ao Prof. Dr. Ivano G. R. Gutz, pela orientação sólida, amizade, e por todos os ensinamentos recebidos, inclusive os científicos.

Aos amigos do Laboratório de Pesquisa em Química Analítica Instrumental: Lúcio, Claudimir, Carlos, Dosil, Eduardo, Luciano, José Geraldo, Flávio, Fabiano (Beiruth), Vitor, Alexandre, Alberto, Adalgisa, Márcio, Jairo, Carol, Renata, Osmar, Rodrigo (Escobar), Sérgio, Lúcia, Socorro, Eric (Pop), Miyuki, Fabiana, Zé Maria, Heron, Pilar, Jony, Robinson, Marco Antônio, Fernando (Fefe), Blanes, Renato, Rogério, Ricardo e Marlene, pelo apoio, companheirismo, momentos de surto compartilhado e pelo excelente ambiente de trabalho.

Ao Fernandinho, pelo suporte técnico e pelo desenvolvimento do gambiostato.

Ao prof. Wilhelm, e aos alunos Vitor, Danilo e Wilson, pela assessoria em química orgânica.

Aos colegas de dentro e fora do Instituto de Química: Luis Kosmisky, Zé Roberto, Denise, Dalva, Luciane, Aline, Mário, Pedro, Ana Paola, Eder, Adriana, Luis, Patrícia, Mauro, Valber e Cláudia, pelo companheirismo e incentivo.

Aos amigos, Paloma, André, Maria, Toninho, Gil, Lúcia, Beth, Shirley e Chieh, por compartilharem comigo seu tempo, pelo apoio concreto, pela disponibilidade, cumplicidade e amizade.

A Ester, por tudo que vivemos, compartilhamos e aprendemos juntas, pela lealdade, amizade, e pela imensa falta que você faz e ainda vai fazer por ter partido cedo demais...

Ao Instituto de Química da USP e a todos os seus funcionários, que forneceram além da estrutura o devido suporte quando solicitado.

Ao CNPq, pela bolsa concedida para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

RESUMO	9
ABSTRACT	11
CAPÍTULO 1 - ESPECTROELETROQUÍMICA	13
INTRODUÇÃO	15
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE CÉLULAS ESPECTROELETROQUÍMICAS	18
CAPÍTULO 2 - DERIVADOS FENOTIAZÍNICOS	27
INTRODUÇÃO	28
MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DE DERIVADOS FENOTIAZÍNICOS	30
CAPÍTULO 3 - OBJETIVOS	33
CAPÍTULO 4 - PARTE EXPERIMENTAL	35
REAGENTES E SOLUÇÕES	36
<u>SISTEMAS MODELOS</u>	36
o-Tolidina	36
Hexacianoferrato de potássio - $K_4Fe(CN)_6$	37
<u>ELETROLITOS SUPORTE</u>	37
Ácido acético e perclórico	37
Cloreto de potássio	37
Nitrato de sódio	37
Tampão ácido acético/acetato (pH= 4,7)	38
Ácido sulfúrico	38
<u>DERIVADOS FENOTIAZÍNICOS</u>	38
Prometazina	38
Clorpromazina	38
Promazina	38
<u>DIPIRONA</u>	39
<u>AMOSTRAS</u>	39
Fenergan	39
Lisador	39
Lisador comprimidos	39
Lisador injetável	39
Amplictil	40
Amplictil comprimidos	40
Amplictil gotas	40
APARELHAGEM	40
Potenciostato	40

Espectrofotômetro	43
Bomba peristáltica	43
Injetor manual	43
Dispositivo para remoção de bolhas	43
Compressor de ar	44
Eletrodos	44
Cubetas	44
ARRANJO EXPERIMENTAL	45
CAPÍTULO 5 - CONSTRUÇÃO E AVALIAÇÃO DA CÉLULA ESPECTROELETROQUÍMICA	46
DESENVOLVIMENTO E CONSTRUÇÃO DA CÉLULA ESPECTROELETROQUÍMICA	47
AVALIAÇÃO DA CÉLULA ESPECTROELETROQUÍMICA	50
Modo estacionário	50
Modo hidrodinâmico	56
Conclusões Parciais.....	67
CAPÍTULO 6 – ESTUDO DO PROCESSO DE OXIDAÇÃO DE DERIVADOS FENOTIAZÍNICOS.....	68
ESTUDO DO PRODUTO DE OXIDAÇÃO DE DERIVADOS FENOTIAZÍNICOS	69
CONCLUSÕES PARCIAIS	88
CAPÍTULO 7 - APLICAÇÕES ANALÍTICAS	89
<u>DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ESPECTROELETROANALÍTICO PARA A DETERMINAÇÃO DE DERIVADOS FENOTIAZÍNICOS EM</u> <u>MEDICAMENTOS.....</u>	<u>90</u>
DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ESPECTROELETROANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE PROMETAZINA	91
DETERMINAÇÃO DE PROMETAZINA NO MEDICAMENTO <i>FENERGAN</i>	106
Metodologia oficial.....	109
Comparação entre os métodos	111
Conclusões parciais	112
DETERMINAÇÃO DE PROMETAZINA NO <i>LISADOR</i>	113
Investigação espectroeletroquímica sobre as possíveis interações entre os compostos presentes no <i>Lisador</i>	113
Determinação de prometazina <i>Lisador</i>	119
Determinação de prometazina <i>Lisador</i> comprimido	120
Determinação de prometazina <i>Lisador</i> injetável	121
Comparação entre os métodos	123
Conclusões parciais	125
DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ESPECTROELETROANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE CLORPROMAZINA	126
DETERMINAÇÃO DE CLORPROMAZINA NO MEDICAMENTO <i>AMPLICTIL</i>	133
<i>Amplictil</i> comprimido	134

Metodologia oficial	136
Comparação entre os métodos	137
<i>Amplictil</i> gotas	138
Investigação espectroeletroquímica sobre as possíveis interações entre os compostos presentes no	
<i>Amplictil</i>	138
Determinação de clorpromazina no <i>Amplictil</i> gotas	140
Comparação entre os métodos	143
CONCLUSÕES PARCIAIS	144
CAPÍTULO 8 - CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	145
CONCLUSÕES	146
PERSPECTIVAS	149
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	150
CURRICULUM VITAE	159

RESUMO

O presente trabalho versa sobre o aperfeiçoamento e a avaliação de uma nova célula espectroeletroquímica de longo caminho óptico, com detecção espectrofotométrica *in situ*, na região do ultravioleta e visível, otimizada para operação em fluxo, sobretudo no modo FIA (*Flow Injection Analysis*). Monitoramento sensível e razoavelmente seletivo, além da facilidade de construção e adaptação à instrumentação comercial existente, foram características consideradas no aprimoramento da célula, que utiliza filmes de Au como eletrodos de trabalho, obtidos a partir de certos tipo de CDs regraváveis (*Compact Disc-Recordable*), colados sobre bases acrílicas e diretamente acomodados em cubetas convencionais, com 1 cm de caminho óptico, tornando seu custo de produção inferior a qualquer outro modelo proposto.

Utilizando como sistemas modelo, a o-tolidina e o hexacianoferrato de potássio, foram avaliados parâmetros instrumentais tais como: potencial aplicado, vazão, volume injetado; repetibilidade e faixa de concentração de analito, com a finalidade de se estabelecer as melhores condições de trabalho e funcionamento da célula, tendo em vista sua aplicação analítica. Alta sensibilidade óptica, operação estável e reprodutível, além da possibilidade de se trabalhar tanto no modo estacionário como em fluxo, com a vantagem de se poder combinar a técnica à metodologia utilizada na análise por injeção em fluxo (FIA), foram algumas das características observadas para a célula construída.

Desvendadas as potencialidades da célula, em busca de maior compreensão sobre os processos envolvidos, passou-se à investigação do mecanismo de oxidação de alguns derivados fenotiazínicos, através da realização de um estudo comparativo entre: a prometazina, a promazina e a clorpromazina, em diferentes meios de trabalho. A combinação de informações eletroquímicas e espectroscópicas obtidas *in-situ* contribuiu para melhor entendimento dos mecanismos envolvidos, revelando que, embora o meio de trabalho escolhido possa exercer significativa influência no mecanismo de oxidação, a estrutura da cadeia lateral é, neste caso, o fator preponderante na formação dos produtos de oxidação.

Visando o desenvolvimento de novas metodologias para a quantificação de derivados fenotiazínicos em formulações farmacêuticas, foram realizados estudos com o propósito de

definir as melhores condições de trabalho, bem como o efeito da presença de interferentes concomitantes.

Os resultados obtidos para a determinação da prometazina no *Fenergan* (Rhodia-Farma) e no *Lisador* (Farmasa), e para a clorpromazina no *Amplictil* (Aventis), seja pela construção de curvas analíticas e/ou pelo método da adição de padrão, mostraram-se concordantes com os valores fornecidos pelos laboratórios fabricantes e comparáveis com os obtidos através da metodologia oficial. Para a prometazina os limites de detecção foram determinados em $1,3 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e $3,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ para as medidas espectrofotométricas e eletroquímicas, enquanto os limites de quantificação foram estimados em $1,1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e $2,2 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ para as medidas eletroquímicas e espectrofotométricas, respectivamente. Para a clorpromazina, os limites de detecção foram de $7,6 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $4,1 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ para as medidas eletroquímicas e espectrofotométricas, enquanto os limites de quantificação foram determinados em $3,3 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,6 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ para as medidas eletroquímicas e espectrofotométricas, respectivamente. A dupla resposta proporcionada pela técnica empregada (amperométrica e espectrofotométrica) permite contornar os efeitos causados pela presença de interferentes eletroativos ou coloridos, contribuindo para a alta seletividade do método e melhor discriminação entre o sinal do analito e de interferentes.

ABSTRACT

The present work is concerned with the enhancement and assessment of a novel long-optical-path spectroelectrochemical cell for *in situ* spectrophotometric detection in the ultraviolet and visible range, optimised for flowing operation, especially under FIA (*Flow Injection Analysis*) conditions. The sensitive and rather selective monitoring of electrolysed species present at the electrode-solution interface, together with simplicity of assembly and adaptation to existing commercial equipments, were some of the features targeted in the cell's improvement. The use of Au-film electrodes obtained from certain types of recordable CDs (*Compact Disc-Recordable*), attached onto acrylic supports in turn accommodated directly in conventional 1-cm optical-path cuvettes, makes the production of this cell cheaper than any other model so far proposed.

O-tolidine and potassium hexacyanoferrate were employed as model systems for the assessment of instrumental parameters such as applied potential, flow rate, injected volume, repeatability and concentration range of the analyte, aiming at establishing the best working conditions for its application in analytical chemistry. High optical sensitivity, stable and reproducible operation, as well as the possibility of functioning either in the stationary or in flow modes, thus with the advantage of exploiting the FIA methodology, are some of the features observed for the cell.

Further to highlighting the cell's potentials and in order to seek a better understanding of the processes involved, the oxidation mechanism of a few phenothiazinic derivatives was investigated. Prometazine, promazine and chlorpromazine were comparatively studied in different media. The combination of the electrochemical and spectroscopic information obtained *in situ* contributed for a better comprehension of the mechanisms involved and revealed that the structure of the side chain is the key factor in the formation of the oxidation products, although the difference in the electrolytic medium is likely to play a significant role in the oxidation process.

New analytical methodologies for the quantification of phenothiazinic derivatives in pharmaceutical formulations were developed through studies focused on the definition of the optimum experimental conditions and on the effect of potential interfering species. Prometazine was determined in *Fenergan* (Rhodia-Farma) and in *Lisador* (Farmasa), whereas chlorpromazine was quantified in *Amplictil* (Aventis). The limits of detection (LOD)

for promethazine were determined to be $1,3 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ and $3,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ for spectrophotometric and electrochemical measurements, while the limits of quantification (LOQ) were determined to be $1,1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ and $2,2 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ for spectrophotometric and electrochemical measurements, respectively. For chlorpromazine, the limits of detection (LOD) were determined to be $7,6 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ and $4,1 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ for spectrophotometric and electrochemical measurements, while the limits of quantification (LOQ) were determined to be $3,3 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ and $1,6 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ for spectrophotometric and electrochemical measurements, respectively. The results obtained using both analytical curves and the standard addition methods, were consistent with the outcome of official methods and with the data supplied by the manufactures. The double response provided by the technique, amperometric and spectrophotometric, allows overcoming the interference of electroactive and colored species, hence turning this a highly selective method with an enhanced discrimination strength between the signal of the analyte and that of interfering species

CAPÍTULO 1 - ESPECTROELETROQUÍMICA

INTRODUÇÃO

A química eletroanalítica se serve de um amplo leque de técnicas quantitativas^[1], entre as quais se destacam as voltamétricas e as potenciométricas, por combinarem boa seletividade, rapidez e sensibilidade com baixo custo e facilidade de miniaturização, entre outras características. Na elucidação de processos de eletrodo, contudo, as técnicas eletroquímicas nem sempre são suficientes, razão pela qual são, freqüentemente, combinadas com outras, especialmente, as espectroscópicas. Essa combinação de técnicas recebeu a designação de espectroeletroquímica, e é especialmente aplicável quando medidas espectroscópicas são realizadas na própria célula eletroquímica^[2,3].

A correlação de informações espectroscópicas e eletroquímicas amplia as possibilidades de elucidação de processos de eletrodo, permitindo significativa expansão em investigações químicas possíveis. A eletroquímica permite apurado controle do estado de oxidação da espécie de interesse, por adição ou remoção de elétrons do sistema via eletrodo, enquanto a espectroscopia é utilizada como uma sonda que permite observar conseqüências de fenômenos eletroquímicos simultaneamente ao processo de eletrogeração. A espectroeletroquímica, por exemplo, possibilita o estudo e a caracterização de intermediários que possuam estado de oxidação sinteticamente inacessível.

Diferentes técnicas espectroscópicas têm sido associadas a técnicas eletroquímicas. A espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta (UV), visível (VIS) e infravermelho (IV) são as mais freqüentemente utilizadas, por dependerem de instrumentação mais acessível, serem de fácil implementação e propiciarem o monitoramento sensível e razoavelmente seletivo de espécies eletrolisadas na interface eletrodo/solução. A espectrofotometria de absorção pode ser implementada em um dos três modos^[4]:

- (1) Transmissão, que envolve a passagem do feixe óptico diretamente pelo eletrodo opticamente transparente e/ou pela solução adjacente;
- (2) Refletância especular, onde o feixe óptico atravessa a solução e é refletido pela superfície do eletrodo;

(3) Refletância interna, onde o feixe óptico atravessa um eletrodo opticamente transparente é refletido pela solução em um ângulo maior que o ângulo crítico de forma a ser totalmente refletido.

Técnicas como a luminescência e a espectroscopia de espalhamento, também foram combinadas à eletroquímica. Em Raman e Raman ressonante há a excitação direta da solução por um feixe de laser, sendo observado o espalhamento provocado (espectro Raman) ^[5-7]. Um aspecto particularmente importante da espectroeletroquímica Raman é a informação estrutural contida no espectro Raman. O feixe óptico usado para excitação também pode resultar em fluorescência. Uma grande variedade de reações no eletrodo pode ser acompanhada pela emissão de luz como resultado da quimiluminescência eletrogerada ^[8].

Ainda outras técnicas como ressonância magnética nuclear (RMN), elétron spin ressonante (ESR) e espectrometria de massa foram igualmente unidas à eletroquímica, através do desenvolvimento de células eletroquímicas apropriadas à procura de informações e identificação de produtos de eletrólise ^[9-13]. A Figura 1, ilustra e resume as principais técnicas espectroscópicas que podem ser combinadas às técnicas eletroquímicas.

A espectroeletroquímica encontrou diversas aplicações, destacando-se entre outras: a elucidação de mecanismos de reação ^[14-20], a determinação da cinética de reações ^[16,17,21-31], o estudo da estequiometria de reações ^[32], a obtenção de espectros de intermediários de vida curta ^[4,33-36], a determinação de potenciais de oxi-redução e de número de elétrons transferidos ^[33,37-51], a caracterização do estado de valência misto de heteropoliânions ^[52,53], o estudo de fenômenos de superfície ^[7,54-60] e a investigação do dicróismo elétrico de moléculas ^[61-63].

As possibilidades de combinação entre diferentes técnicas espectroscópicas e eletroquímicas são inumeráveis, todavia o ajuste adequado e satisfatório entre as técnicas empregadas depende especialmente do tipo de célula espectroeletroquímica utilizada, justificando sua consideração mais atenta nesta tese. Com a intenção de situar as contribuições desta tese no contexto deste campo de pesquisa, apresenta-se a seguir sucinta revisão bibliográfica que aborda e enfatiza diferentes tipos de células espectroeletroquímicas descritos na literatura, fazendo-se referência a exemplos representativos e inovadores.

TÉCNICAS ESPECTROELETROQUÍMICAS

Adaptado de Heineman, W. R.; *Anal. Chem.* 50 (1978) 390A

Figura 1. Principais técnicas espectroscópicas associadas a técnicas eletroquímicas.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE CÉLULAS ESPECTROELETROQUÍMICAS

A concepção do que mais tarde veio a ser denominada espectroeletroquímica surgiu no início dos anos sessenta, quando R. N. Adams comentou com o então aluno de graduação, T. Kuwana, durante a realização de estudos de eletro-oxidação de fenilenediaminas substituídas: “Não seria bom se pudéssemos ter um eletrodo que nos permitisse observar e identificar espectroscopicamente a espécie colorida que é formada?”^[64]. Esta idéia esperaria ainda alguns anos até que fosse implementada em 1964 por Theodore Kuwana e colaboradores^[3] que explorando as possibilidades de uso do eletrodo de vidro condutor, opticamente transparente na região do visível, constaram que este eletrodo, quando atravessado por um feixe óptico, permitia a observação espectral *in-situ* de substâncias eletrogeradas em sua superfície, tornando possível o monitoramento de espécies eletroativas intermediárias ou ainda eletrogeradas durante a eletrólise. Kuwana e colaboradores realizaram estudos com substâncias como a antraquinona e o-tolidina e puderam estabelecer algumas relações. A primeira delas é que a absorbância é proporcional à concentração das espécies eletrogeradas e pode ser expresso pela lei de Beer:

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot C$$

Onde **A** é a absorbância, ε é a absortividade molar ($\text{mol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), **b** é o caminho óptico (cm) e **C** é a concentração (mol L^{-1}). Esta fórmula simples é aplicável somente quando a distribuição da espécie monitorada na superfície do eletrodo é homogênea, ou seja, quando o potencial em solução está em equilíbrio com o potencial do eletrodo.

Outras observações feitas referem-se ao fato de que a concentração é proporcional ao tempo, sob a condição de eletrólise a corrente constante e que a velocidade de oxidação das espécies é governada pela difusão. A facilidade de se realizar estudos espectrais utilizando o eletrodo de vidro condutor, que nada mais é do que uma lâmina de vidro sobre a qual é depositado um óxido redutor, p.ex. SnO_2 , pode auxiliar a elucidação de mecanismos e cinética de processos de eletrodo. Deu-se então origem a espectroeletroquímica e com ela se

abriu caminho para o surgimento das mais diversas versões e modelos de células espectroeletróquímicas.

Numa primeira fase de desenvolvimento da técnica, grande parte das células espectroeletróquímicas utilizava a espectrofotometria como técnica de detecção e eram construídas com eletrodos opticamente transparentes (OTE – *Optically Transparent Electrode*). A principal característica deste tipo de eletrodo reside no compromisso entre a alta transparência óptica e a baixa resistividade elétrica^[65], no entanto poucos materiais reúnem estas duas características. Os OTEs podem ser classificados em três classes principais: filmes, *minigrids* (finas malhas metálicas com 100 – 200 fios por polegada) e os quimicamente modificados.

Os filmes podem ser metálicos (Pt, Au e Hg-Pt) ou semicondutores (SnO₂, In₂O₃ e TiO₂) e são depositados sobre superfícies como vidro, plástico, quartzo ou germânio dependendo da região espectral de interesse, apresentando transparência variável entre 20 e 85%^[65-67].

Os *minigrids* mais comuns são feitos de Pt, Au, Ni, Ag, Cu, Hg-Ni e Hg-Au, e sua transparência varia entre 20 e 80%^[65,68,69]. Diferentemente dos filmes, os *minigrids* apresentam as duas faces expostas ao eletrólito e se comportam como microeletrodos nos instantes iniciais de experimentos rápidos para passar, em seguida, ao regime de difusão linear semi-infinita. Outra característica particular aos *minigrids* é o fato de que a porcentagem de luz transmitida (ou a transmitância) é constante em uma grande região do espectro (do ultravioleta até o infravermelho).

Os quimicamente modificados são eletrodos convencionais, filmes ou *minigrids*, que sofreram algum tipo de modificação em sua superfície e são usados em aplicações específicas^[70-72].

Outro tipo de eletrodo opticamente transparente usado na construção de células espectroeletróquímicas é o de carbono vítreo reticulado^[73-75]. Uma fatia de um eletrodo de carbono vítreo apresenta um valor de transmitância comparável a de um *minigrid* (13 - 45%, para 100 ppi (poros por polegada) e 1,2 – 0,5 mm de espessura). A porosidade deste eletrodo faz com que se alcance a eletrólise completa do analito em pouco tempo devido ao curto caminho difusional até a superfície do eletrodo^[43].

Novos materiais para a construção de eletrodos opticamente transparentes continuam sendo pesquisados^[76,77]. Um exemplo recente refere-se ao uso de eletrodo de diamante, que apresenta como principais características: ampla janela óptica (cerca de 50% de transparência na região de 300 - 900 nm e maiores que 50% acima de 1500 cm^{-1}), alta estabilidade em sistemas aquosos e não aquosos, tanto sob polarização catódica quanto anódica ($\geq 10 \text{ mA/cm}^2$) e baixa resistividade elétrica ($\leq 0,1 \Omega/\text{cm}$)^[78].

As primeiras células espectroeletroquímicas construídas possuíam camada de difusão adjacente ao eletrodo muito espessa e isto tornava o tempo de eletrólise elevado. Para evitar este problema, os eletrodos opticamente transparentes foram posteriormente acomodados em células de camada delgada, com caminho óptico da ordem de centésimos a décimos de centímetros. Estas células, embora apresentem reduzido tempo de eletrólise, só podem ser aplicadas a substâncias com alta absortividade molar ou em altas concentrações, aliando-se a esta desvantagem o posicionamento do eletrodo de referência que na maioria dos casos impossibilitava um acurado controle do potencial. Um exemplo de célula de camada delgada que utiliza como eletrodo opticamente transparente um *minigrad* de Au é mostrado na Figura 2^[33].

DeAngelis, T. P.; Heineman, W. R.; *J. Chem. Educ.* 53 (1976) 594

Figura 2. (A) Montagem da célula. (B) Vista frontal. (C) Vista lateral. (D) Dimensões de 100 fios/in. (a) Abertura para troca de amostra. (b) Espaçadores de Teflon. (c) Lâminas. (d) Solução. (e) Eletrodo transparente (*minigrad* de Au). (f) Caminho óptico. (g) Eletrodos de referência (ECS) e auxiliar. (h) Compartimento com solução. (i) Resina epóxi. Transmitância: 82 %. Volume: 30 - 50 μL . Eletrólise completa: 30 - 60 s. Caminho óptico 0,017 cm.

Somente em 1979 desponta a primeira célula espectroeletroquímica de longo caminho óptico e camada delgada^[79], onde o feixe óptico atravessa a célula paralelamente à superfície do eletrodo de trabalho. A elevação na sensibilidade da técnica, proporcionada pelo aumento do caminho óptico, permitiu sua aplicação a substâncias com menor absortividade molar ou ainda em menor concentração. Outra vantagem proporcionada pela utilização deste tipo de célula é a obtenção de informações sobre a concentração das espécies eletrogeradas em função da distância até a superfície do eletrodo, ou seja, a resolução espacial da camada de difusão.

Esta inovação abriu caminho para a utilização de materiais de eletrodo não transparentes e várias outras células de longo caminho óptico e camada delgada foram desenvolvidas^[54, 80-82,]. Algumas se tratavam de dispositivos com dimensões bem superiores à de uma cubeta convencional de 1 cm de caminho óptico (Figura 3) e embora provessem alta sensibilidade óptica^[83], a difícil adaptação deste tipo de dispositivo a equipamentos comerciais fez com que se buscasse acomodar todos os componentes necessários dentro de cubetas convencionais. Tem-se assim células de longo caminho óptico e camada delgada, onde todos os dispositivos necessários para sua montagem foram confeccionados em blocos de Teflon e posteriormente acomodados em cubetas convencionais com 1 cm de caminho óptico^[84-86].

Zak, J.; Porter, M. D.; Kuwana, T.; *Anal. Chem.* 55 (1983) 2219

Figura 3. Célula espectroeletroquímica de longo caminho óptico. (a) Corpo da célula, (b) Espaçadores, (c) Janelas de quartzo, (d) Canais de contato até solução, (WE) Eletrodo de trabalho (carbono vítreo), (RE) Eletrodo de referência (Ag/AgCl), (AE) Eletrodo auxiliar (Pt). Caminho óptico: 1,62 cm. Volume: 11,3 μ L. Tempo de eletrólise: 25 s (99% completa).

Em 1983, com a construção de uma célula eletroquímica também adaptada a uma cubeta de quartzo, foi introduzida uma nova técnica a espectrofluorovoltametria. Empregando eletrodo de trabalho de Cu que possibilita o ajuste de sua posição de modo a se conseguir o melhor ângulo de incidência da radiação, esta célula (Figura 4) foi utilizada no estudo espectrofluorovoltamétrico de filmes passivantes gerados eletroquimicamente na superfície do eletrodo^[87,88].

Rubim, J. C.; Gutz, I. G. R.; Sala, O.; *Chem. Phys. Lett.* 111 (1984) 117.

Figura 4. Célula para espectrofluorovoltametria. (A) Eletrodo auxiliar (Pt). (B) Tampa (Nylon). (C) Cubeta de quartzo (1 cm). (D) Ponteiro para ajuste do ângulo de radiação incidente. (L) Capilar de Luggin para eletrodo de referência. (R) Eletrodo de referência (ECS). (W) Eletrodo de trabalho (Cu). (Sa) Ponte salina.

A necessidade de se trabalhar em condições específicas, como sob temperaturas elevadas ou baixas, motivou a construção de células espectroeletroquímicas que se adequassem a estas necessidades^[89,90]. Células e eletrodos com formatos singulares ou pouco convencionais foram projetados, entre estes destacam-se uma célula tubular (Figura 5) com dupla transmitância^[91], montada em vidro pirex com eletrodo opticamente transparente de *minigrad* de Pt, cuja construção dispensa o uso de qualquer tipo de adesivo epóxi, o que permite sua limpeza e remontagem de maneira rápida e reprodutível, e um eletrodo cúbico de carbono vítreo reticulado, com isolamento superficial e orifício cilíndrico central em forma de 'T' para a passagem do feixe óptico^[92], com o qual é possível realizar

tanto medidas de absorvância quanto de luminescência. Esta associação de informações de absorção e luminescência foi utilizada na investigação de propriedades do estado excitado de complexos de metais de transição^[93,94].

Flowers, P. A.; Nealy, G.; *Anal. Chem.* 62 (1990) 2741

Figura 5. Célula tubular. (a) Contato com eletrodo auxiliar (malha de Pt). (b) Contato com eletrodo de trabalho (malha de Pt). (c) Fita Teflon. (d) Solução. (e) Tampa de agar. (f) Cubeta cilíndrica. (g) Tubo pirex. Eletrodo de referência Ag/AgCl. Caminho óptico: 0,0527 cm. Volume: 56 μ L. Tempo de eletrólise: 1 min.

A obtenção de dois diferentes sinais espectroscópicos em um único experimento espectroeletródico, a espectroeletródica bidimensional, foi apresentada como uma nova metodologia para a elucidação de processos de eletrodo^[95]. A combinação de sinais provenientes de dois feixes ópticos, um incidindo paralela e outro normal à superfície do eletrodo de trabalho, revelam além da distribuição espacial das espécies eletrogeradas, a presença de fenômenos de adsorção e/ou de eletropolimerização, que não poderiam ser completamente elucidados por observações espectroeletródicas unidimensionais^[96].

Materiais como as fibras ópticas tiveram seu uso exercitado na construção de células espectroeletródicas, tendo como principal vantagem a liberdade de dimensão e posicionamento das células^[97-99], que podem até mesmo se encontrarem distante dos equipamentos de medida (Figura 6).

- (a) Micrômetro com fusão não rotacional.
- (b) Contato elétrico.
- (c) Lacre compressor.
- (d) Eletrodo de trabalho (disco de Pt).
- (e) Contato com eletrodo de referência.
- (f) Bloco de Teflon.
- (g) O-ring.
- (h) Recipiente de quartzo.
- (i) Proteção contra luz ambiente.
- (j) Termostato.
- (k) Agitador magnético.
- (l) Eletrodo auxiliar (Au).
- (m) Eletrodo de referência (Ag/AgCl).
- (n) Canal de refrigeração.
- (o) Feixe de fibras ópticas.
- (p) (q) (r) Suportes.
- (s) Suporte de aço-inox.
- (F) Fibras ópticas.
- (D) Detector.

Salbeck, J.; *J Electroanal. Chem.* 340 (1992) 169.

Figura 6. Célula espectroeletroquímica para medidas espectroscópicas e eletroquímicas que utiliza fibras ópticas.

A predominância de células estacionárias, observada principalmente numa primeira fase de desenvolvimento da técnica, foi pouco a pouco cedendo espaço para células em fluxo. Para espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta e do visível tem sido proposto tanto células que utilizam eletrodos opticamente transparentes^[100,101], como dispositivos de camada delgada e longo caminho óptico adaptáveis a cubetas convencionais^[102,103]. As células em fluxo não só possibilitam a troca mais rápida e reprodutível das soluções que estão sendo investigadas – sem desmontagem da célula – como abrem caminho para a combinação com a metodologia da análise por injeção em fluxo (FIA – *Flow Injection Analysis*)^[104,105], ou seja, a espectroeletroanalítica em fluxo. A potencialidade da análise por injeção em fluxo na automação de procedimentos analíticos que precedem a determinação é bem conhecida, assim como a rapidez e reprodutibilidade nas operações, drástica redução nas intervenções manuais envolvidas, redução nos riscos de contaminação (sistema fechado, salvo nas extremidades das linhas de fluxo) e baixo consumo de amostras e reagentes.

Uma contribuição adicional no desenvolvimento de células apropriadas para trabalhos em fluxo refere-se a combinação de FIA com espectroscopia Raman como técnica de detecção^[106]. A superfície do eletrodo de trabalho de carbono vítreo recebe eletrodeposição de prata antes da injeção do analito. Após a acumulação dos dados espectrais do analito adsorvido irreversivelmente sobre a prata, todo o depósito (inclusive a prata) é removido por eletro-oxidação (*stripping*). Evita-se assim a desmontagem e o polimento do eletrodo, adotado por outros pesquisadores^[107,108]. Utilizando a técnica SERRS (*Surface-Enhanced Resonance Raman Scattering*), esta célula serviu para a determinação de femtomols de Fe(II) na forma de complexo com bipyridina^[106].

A combinação entre o eletrodo de disco rotatório e a espectroscopia no UV-vis, através de um arranjo no qual o feixe óptico pode atravessar o eletrodo rotatório opticamente transparente^[109] ou ser refletido por sua superfície^[110], tornou possível o desenvolvimento de métodos espectroeletroquímicos *in situ* ou *on line* sob condições hidrodinâmicas bem definidas. Células em canal (Figura 7) (*channel flow cells*)^[100,111,], que operam sob a condição de fluxo laminar foram desenvolvidas e utilizadas como ferramenta na investigação do mecanismo de reações eletroquímicas e na determinação do coeficiente de difusão de cátion e ânions radicalares^[15,17,112].

Wang, Z.; Zhao, M.; Scherson, D. A.; *Anal. Chem.* 66 (1994) 4560

Figura 7. *Channel flow cell*. (a) Suporte. (b) Lâmina de quartzo. (c) Espaçador. (d) Entrada. (e) Eletrodo de trabalho (Au). (f) Lâmina de quartzo. (g) Eletrodo auxiliar (Au). (h) Saída. (i) Bomba peristáltica. (j) Reservatório. (k) Eletrodo de referência (ECS). Caminho óptico: 0,535 mm.

Microeletrodos^[113,114], por apresentarem características como alta densidade de corrente, provida pelo aproveitamento da difusão radial do analito na superfície do eletrodo, pequena distorção ôhmica e a baixa corrente capacitiva, foram utilizados na construção de células espectroeletroquímicas^[97,115,116] impulsionando o desenvolvimento de microcélulas. Com caminho óptico e espessura da camada delgada ajustáveis^[117,118], permitindo controle do regime difusional (finito ou semi-infinito), algumas microcélulas destacam-se na literatura por além disso possibilitarem a realização de trabalho em fluxo e serem de fácil adaptação à espectroscopia em diferentes regiões espectrais além de espectroscopia de espalhamento Raman^[119,120].

O uso de colunas que operam em fluxo contínuo, tornou-se comercialmente importante por ser uma maneira rápida e quantitativa de eletrólise^[121,122]. Desenvolveram-se então colunas espectroeletroquímicas^[123-126], *in situ* ou *on line*, nas quais a área superficial de eletrodo de trabalho é bastante elevada frente ao volume de solução devido ao seu empacotamento com materiais como grânulos de carbono vítreo ou fibras de carbono.

Habitualmente empregada como técnica de estudo de propriedades fundamentais de moléculas, a espectroeletroquímica tem-se revelado importante instrumento analítico. Sua potencialidade, já evidenciada pela determinação quantitativa de vários metais em níveis traço^[54,127,128], hoje se expande através da construção de sensores espectroeletroquímicos multi-seletivos^[129]. Sozinha, a espectroeletroquímica com detecção no UV-Vis por refletância interna oferece dois modos de seletividade: a eletroquímica, através do potencial aplicado à célula e a espectroscópica pela escolha do comprimento de onda. Esta seletividade pode ser aumentada pela aplicação de finos filmes poliméricos de exclusão por carga sobre o eletrodo opticamente transparente. O desenvolvimento e a implementação destes sensores espectroeletroquímicos multi-seletivos é uma área de pesquisa bastante recente, mas com amplas possibilidades de aplicação^[130].

Verifica-se no decorrer das quatro décadas de existência da espectroeletroquímica considerável e contínuo progresso no que se refere à concepção e ao desenvolvimento de novas células espectroeletroquímicas, todavia, há margem para inovações e aperfeiçoamentos. Para a espectrofotometria de absorção na região UV-Vis, embora haja uma grande diversidade de células espectroeletroquímicas propostas, poucas se destinam à

operação em fluxo e agregam em si características como facilidade de construção e de ajuste à instrumentação comercial disponível. Restrições como estas fazem com que o uso da técnica para fins analíticos seja completamente escasso, razão pela qual optou-se por desenvolver novas versões, em função das características desejadas e da disponibilidade de materiais.

CAPÍTULO 2 - DERIVADOS FENOTIAZÍNICOS

INTRODUÇÃO

Drogas antipsicóticas são usadas como recurso terapêutico no tratamento de vários tipos de distúrbios mentais e de personalidade, como a esquizofrenia e na fase maníaca da doença maniaco-depressiva. As psicoses são caracterizadas por manifestações de um estado alterado da personalidade no qual a pessoa tem sensações que não correspondem à realidade e pensamentos que fogem ao seu controle. A forma mais freqüente de psicose é a esquizofrenia que aflige cerca de 1% da população mundial. Acredita-se que a psicose é causada pela excessiva atividade dopaminérgica, como consequência quase todas as drogas antipsicóticas atuam como bloqueadores de dopamina nas áreas quimio-receptoras e medulares do cérebro^[131].

A descoberta dos efeitos antipsicóticos da clorpromazina, no início dos anos 50, representou um marco na história das ciências médicas e psiquiátricas^[132]. Desde então, diversos derivados fenotiazínicos estão sendo empregados não só no tratamento de distúrbios mentais e seus sintomas, mas também como tranquilizantes, anti-histamínicos, antieméticos, ou ainda para potencializar o efeito anestésico, analgésico e sedativo de outros tipos de drogas^[133].

Derivados fenotiazínicos substituídos nas posições 2 e 10, além de exibirem propriedades medicinais, apresentam interessantes propriedades químicas^[134], sendo a mais importante delas, ao menos para fins analíticos, a grande facilidade de oxidação com formação de produtos intensamente coloridos. Acredita-se que a reação de oxidação de derivados fenotiazínicos ocorra em duas etapas: a primeira reversível, com a formação de um cátion radicalar colorido; e a segunda irreversível, que leva à formação do sulfóxido incolor, como se observa na Figura 8.

Figura 8. Provável mecanismo de oxidação de derivados fenotiazínicos.

Presume-se que o cátion radicalar formado durante a primeira etapa de oxidação seja um importante intermediário no metabolismo da droga e o responsável por sua atividade farmacológica^[135,136]. O crescente interesse sobre esta classe de compostos acabou por gerar um grande número de artigos dedicados ao estudo dos produtos de oxidação de derivados fenotiazínicos^[137-142], e embora existam muitas propostas de mecanismos ainda há muita discordância sobre os produtos formados, especialmente pelo fato de que estes dependem em grande parte das condições experimentais (pH, temperatura, concentração, tipo de oxidante utilizado e seu respectivo potencial redox) e do grupo substituinte da cadeia lateral (R e X na Figura 8)^[143,144]. Entre os possíveis produtos gerados encontram-se radicais neutros, cátions e dicátions radicalares, bem como espécies binucleares^[145,146], sendo relatado que em alguns casos os produtos ainda não foram bem identificados^[134]. Ainda na tentativa de elucidar o mecanismo de oxidação, estudos sobre a transferência de carga entre o radical formado e catecolaminas^[147], e sobre os intermediários produzidos em processos de transferência eletrônica em sistemas semicondutores também foram realizados^[148].

MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DE DERIVADOS FENOTIAZÍNICOS

O uso crescente de derivados fenotiazínicos na medicina impulsionou o desenvolvimento de diversos métodos para sua determinação, seja na forma de matéria prima, em preparações farmacêuticas ou como metabólitos. Os métodos oficiais apresentados na British Pharmacopoeia (BP) e na United States Pharmacopoeia (USP) consistem em titulação potenciométrica em meio não aquoso ou espectrofotometria na região ultravioleta^[149,150]. O tempo consumido pelo primeiro método é elevado, e cuidados devem ser tomados com segundo, vez que muitos compostos orgânicos absorvem nesta região do espectro.

Vários métodos foram propostos como alternativa aos métodos oficiais, entre os quais incluem-se: os titrimétricos com eletrodos seletivos ou ainda em fase aquosa^[151-156], espectrofotométricos na região do visível, após a oxidação do derivado fenotiazínico^[157-166], potenciométricos^[167,168], condutométricos^[169,170], espectrofluorimétricos^[171], quimioluminescentes^[172,173], cromatográficos^[174-178], voltamétricos de pulso diferencial^[179,180], polarográficos de pulso diferencial^[181], *stripping* voltamétricos de pulso diferencial^[182,183,184,185] e eletroforéticos^[186-189]. A combinação de técnicas eletroquímicas à espectrometria de massa ou fluorescência também foi utilizada com excelente seletividade, mas com a utilização de instrumentação extremante dispendiosa^[190].

A cromatografia líquida de alta eficiência, embora seja uma técnica seletiva e sensível, é onerosa devido ao elevado custo do equipamento e de sua manutenção, compreendida pelo consumo e descarte dos solventes utilizados. Por esta razão, métodos espectrofotométricos, que dependem de instrumentação mais acessível e são de fácil implementação, são usualmente empregados na determinação de derivados fenotiazínicos. Neste caso, em geral, se explora a reação de oxidação química do derivado em meio fortemente ácido ($2 - 10 \text{ mol L}^{-1}$) para a estabilização do radical livre colorido formado^[157,164]. Alguns métodos se baseiam na espectrofotometria derivativa na região do ultravioleta e podem ser aplicados à quantificação simultânea de derivados fenotiazínicos e seus respectivos sulfóxidos^[191].

Os métodos voltamétricos, apesar de menos seletivos que os cromatográficos, são facilmente implementáveis e podem ser acoplados com análise por injeção em fluxo (FIA)^[104,105]. Esta combinação prima pela versatilidade, simplicidade e relativo baixo custo. Além disso, é particularmente atrativa para executar análises de rotina quando se trabalha com um grande número amostras que exibem composição similar como, por exemplo, na área farmacêutica^[192]. Um número crescente de metodologias FIA para a determinação de derivados fenotiazínicos foi publicado em anos recentes^[193-201], todavia a maioria delas explora a conveniência da oxidação *in-line* do analito, por confluência ou ação de um oxidante imobilizado, seguida da detecção espectrofotométrica do cátion radicalar colorido. As principais desvantagens destes métodos são a necessidade de altas concentrações de ácido para estabilização do cátion radicalar ($5 - 7 \text{ mol L}^{-1}$), além do risco da interferência de excipientes coloridos, que podem diferir de uma formulação comercial para outra e absorver no mesmo comprimento de onda escolhido para o analito. Adicionalmente, alguns dos reagentes oxidantes utilizados podem gerar resíduos tóxicos, como Cr(III) e Cr(VI) provenientes do $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, e HCN proveniente do $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$, após redução seguida de decomposição em meio ácido^[202].

Métodos quimioluminescentes em fluxo, embora sensíveis, não são seletivos na determinação de derivados fenotiazínicos. Muitas substâncias orgânicas podem interferir no sinal analítico aumentando seu valor, enquanto outras podem consumir o reagente sem gerar o efeito quimioluminescente ou até mesmo agirem como inibidoras de quimioluminescência. Por esta razão, estes métodos não podem ser diretamente aplicados à determinação de derivados fenotiazínicos em formulações farmacêuticas sem a realização de etapas prévias de separação e/ou extração dos excipientes^[173,203,204].

A eletro-oxidação de derivados fenotiazínicos pode ser executada em célula eletroquímica, a potencial constante, em fluxo, com acurado controle do estado de oxidação da espécie de interesse, e o sinal amperométrico pode ser usado diretamente para sua quantificação. Contudo, quando há mais de uma substância eletroativa na amostra e dependendo de seu potencial da oxidação, é provável que ocorra alguma interferência^[2]. A detecção voltamétrica é um tanto mais complicada, mas pode ser uma alternativa quando os picos não se sobrepõem severamente^[205], ou ainda, a utilização de eletrodo seletivo ao derivado fenotiazínico que se pretende determinar^[206].

Pelo que se pode observar, poucos métodos são inteiramente satisfatórios para a determinação de derivados fenotiazínicos em matrizes complexas, como formulações farmacêuticas diversificadas, devido à presença de compostos associados ou de corantes, sem a necessidade de etapas prévias de extração que, em geral, são laboriosas e/ou morosas. Entretanto, a espectroeletroquímica^[2], pode ser uma ferramenta valiosa para solucionar problemas analíticos como este. A dupla seletividade proporcionada pela combinação do potencial aplicado à célula com a escolha adequada do comprimento de onda pode ser explorada no desenvolvimento de novas metodologias para determinação de derivados fenotiazínicos como alternativa aos métodos existentes.

CAPÍTULO 3 - OBJETIVOS

OBJETIVOS

Como visto na revisão bibliográfica, embora haja um grande número de células espectroeletroquímicas descritas na literatura, o emprego da técnica em análises de rotina ainda é incipiente. Tal contexto desencadeou a perspectiva da presente tese, que tem por objetivos principais, aperfeiçoar nova célula apropriada para trabalhos rotineiros em fluxo na região do ultravioleta e do visível e explorar sua potencialidade no estudo de processos de eletrodo e, sobretudo, em aplicações analíticas pioneiras.

Dentro do primeiro objetivo, a ênfase recai na construção, caracterização e otimização das condições de uso de células espectroeletroquímicas de baixo custo, fácil confecção e adaptação aos espectrofotômetros comerciais; quanto aos eletrodos, dar preferência ao aproveitamento dos filmes de Au disponíveis em alguns tipos de CD-Rs (Compact Disc - Recordable), que se mostrou promissor anteriormente. Estudar os diversos parâmetros instrumentais envolvidos, de forma a encontrar condições experimentais mais satisfatórias que as proporcionadas por células descritas na literatura, são fatores determinantes para que a técnica espectroeletroquímica utilizada possa ser empregada para fins analíticos.

No âmbito do segundo objetivo, qual seja, o de ampliar as aplicações de células espectroeletroquímicas em fluxo, visa-se: i) demonstrar a potencialidade extra da operação em fluxo frente à operação estática, em estudos de processos de eletrodo, tomando como exemplo o estudo comparativo da oxidação de derivados fenotiazínicos; e ii) explorar a potencialidade da célula no desenvolvimento de metodologias que possam ser diretamente aplicadas à determinação de analitos de forma mais seletiva ou conveniente que por técnicas voltamétricas ou espectrofotométricas separadamente; com este intuito, focalizar a determinação de derivados fenotiazínicos em formulações farmacêuticas complexas, examinando o efeito da presença de compostos associados, corantes e excipientes, e verificar a possibilidade de dispensar pré-tratamento da amostra.

CAPÍTULO 4 - PARTE EXPERIMENTAL

REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos os reagentes utilizados apresentavam grau analítico de pureza ou equivalente. As soluções foram preparadas com água bidestilada e os experimentos conduzidos à temperatura ambiente

SISTEMAS MODELOS

Dois sistemas modelos foram escolhidos para avaliação da célula espectroeletroquímica: a *o*-tolidina e $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6^{-4}$.

o-Tolidina

o-Tolidina ou 3, 3'-dimetilbenzidina (Fisher Scientific) são alguns nomes do composto orgânico aromático de fórmula molecular $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2$ e massa molar $212,3 \text{ g mol}^{-1}$. A reação de oxidação da *o*-tolidina, observada na Figura 9, resulta na formação de um produto de cor amarela de alta absorvidade molar. As soluções de *o*-tolidina foram preparadas imediatamente antes do uso, mediante a pesagem de massa apropriada do sal e solubilização em solução suporte de CH_3COOH ($0,125 \text{ mol L}^{-1}$) e HClO_4 ($0,25 \text{ mol L}^{-1}$), dissolvendo o reagente diretamente nos ácidos concentrados, submetendo a solução a banho ultra-sônico por 5 min e diluindo com água bidestilada até o volume adequado.

Figura 9. Reação de oxidação da *o*-tolidina.

Hexacianoferrato de potássio - $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$

As soluções de hexacianoferrato de potássio (II) ou ferrocianeto de potássio foram preparadas por pesagem de massa exata do sal tri-hidratado (Fisher Scientific), de massa molar igual a $422,39 \text{ g mol}^{-1}$, e dissolução do reagente em solução de KCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) ou NaNO_3 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$).

ELETRÓLITOS SUPORTE

Ácido acético e perclórico

As soluções de ácido acético e perclórico foram preparadas mediante a diluição de volumes apropriados de soluções estoque de CH_3COOH (Merck, densidade= $1,05 \text{ g mL}^{-1}$) e HClO_4 (Merck, densidade= $1,67 \text{ g mL}^{-1}$) de modo a se obter concentrações finais iguais a $0,125 \text{ mol L}^{-1}$ e $0,250 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente.

Cloreto de potássio

As soluções cloreto de potássio (KCl) foram preparadas mediante a pesagem de massa apropriada do sal (Merck), massa molar $58,45 \text{ g mol}^{-1}$, e solubilização em água bidestilada, de modo que a concentração final da solução fosse igual a $1,0 \text{ mol L}^{-1}$.

Nitrato de sódio

As soluções nitrato de sódio (NaNO_3) foram preparadas mediante a pesagem de massa apropriada do sal (Merck), massa molar $84,99 \text{ g mol}^{-1}$, e solubilização em água bidestilada de modo que a concentração final da solução fosse igual a $1,0 \text{ mol L}^{-1}$.

Tampão ácido acético/acetato (pH= 4,7)

A solução tampão foi preparada mediante a pesagem de massa apropriada do sal (Merck) e solubilização em solução de ácido acético, preparada à partir da diluição de volume apropriado de solução estoque (Merck 95-97%, densidade= $1,05 \text{ g mL}^{-1}$), de modo

que a concentração final da solução fosse igual a $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ de CH_3COOH e $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ de CH_3COONa .

Ácido sulfúrico

As soluções foram preparadas mediante a diluição de volumes apropriados de solução estoque de H_2SO_4 (Merck 95-97%, densidade= $1,84 \text{ g mL}^{-1}$) para a obtenção de concentrações finais iguais a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e $2,0 \text{ mol L}^{-1}$.

DERIVADOS FENOTIAZÍNICOS

Prometazina

As soluções de prometazina ($\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{S}\cdot\text{HCl}$) foram preparadas imediatamente antes do uso, mediante a pesagem do sal (Sigma), massa molar $320,9 \text{ g mol}^{-1}$, e solubilização em solução suporte. As soluções foram mantidas ao abrigo de luz.

Clorpromazina

As soluções de clorpromazina ($\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{ClN}_2\text{S}\cdot\text{HCl}$) foram preparadas imediatamente antes do uso, mediante a pesagem do sal (Sigma), massa molar $355,3 \text{ g mol}^{-1}$, e solubilização em solução suporte. As soluções foram mantidas ao abrigo de luz.

Promazina

As soluções de promazina ($\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{S}\cdot\text{HCl}$) foram preparadas imediatamente antes do uso, mediante a pesagem do sal (Sigma), massa molar $320,9 \text{ g mol}^{-1}$, e solubilização em solução suporte. As soluções foram mantidas ao abrigo de luz.

DIPIRONA

As soluções de dipirona ($\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_4\text{SNa}$) foram preparadas imediatamente antes do uso, mediante a pesagem de massa exata do sal seco (Sigma), massa molar $333,3 \text{ g mol}^{-1}$, e solubilização em solução suporte.

AMOSTRAS

Fenergan

Foram analisadas amostras de *Fenergan* tabletes, fabricado pela Rhodia-Farma, com valor nominal de 25 mg de prometazina por tablete. Após trituração de 10 comprimidos de *Fenergan*, o pó foi suspenso em H_2SO_4 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), transferido para papel de filtro (que retém a fração insolúvel do excipiente), lavado com o mesmo eletrólito e diluído em balão volumétrico até o volume adequado.

Lisador

Lisador comprimidos

Foram analisadas amostras de *Lisador* comprimidos, fabricado pela Farmasa, com valor nominal de 5 mg de prometazina, 500 mg de dipirona e 10 mg de adifenina por comprimido. A amostra referente a 10 comprimidos de *Lisador* foi triturada, o pó foi suspenso em H_2SO_4 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), transferido para papel de filtro (que retém a fração insolúvel do excipiente), lavado com o mesmo eletrólito e diluído em balão volumétrico até o volume desejado.

Lisador injetável

Foram analisadas amostras de *Lisador* injetável, fabricado pela Farmasa, com valor nominal de 25 mg de prometazina, 750 mg de dipirona e 25 mg de adifenina por ampola de 2mL. As amostras de *Lisador* foram diretamente diluídas em H_2SO_4 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) até a concentração desejada sem nenhum outro pré-tratamento.

Amplictil

Amplictil comprimidos

Amostras de *Amplictil* comprimido (25 mg/ comprimido), fabricado pela Aventis, foram utilizadas na determinação clorpromazina. Após trituração de 10 comprimidos de *Amplictil*, o

pó foi suspenso em H_2SO_4 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), transferido para papel de filtro (que retém a fração insolúvel do excipiente), lavado com o mesmo eletrólito e diluído em balão volumétrico.

Amplictil gotas

Amostras de *Amplictil* gotas (1 mg/ gota), fabricado pela Aventis, foram utilizadas na determinação clorpromazina. A amostra em gotas foi diretamente diluída em H_2SO_4 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) até a concentração desejada sem nenhum pré-tratamento.

APARELHAGEM

Potenciostato

Utilizando-se potenciostato, baseado em amplificadores operacionais (CI TL084), construído no próprio laboratório^[126], foram impostos os potenciais desejados à célula e realizada a aquisição das medidas de corrente. Esquema simplificado do potenciostato utilizado pode ser observado na Figura 10.

Figura 10. Circuito eletrônico do potenciostato empregado.

O potenciostato foi interfaceado a um microcomputador da linha PC utilizando-se placa PCL-711B, com conversor A/D e D/A de 12 bits de resolução e portas paralelas. Um programa escrito em Delphi 5.0 foi empregado no controle do potenciostato, permitindo a implementação de técnicas como: amperometria, cronoamperometria e voltametria cíclica. As informações são apresentadas graficamente no monitor durante a execução do experimento e podem ser armazenadas e posteriormente abertas utilizando softwares como Microcal Origin e Excel. As janelas de interface, na Figura 11, permitem, além da seleção do modo operacional, a escolha de variáveis tais como potencial inicial, potencial final, velocidade de varredura, tempo, etc. O sistema foi calibrado recorrendo a circuito de célula simulada (*dummy cell*) sendo os valores registrados comparáveis com os observados por meio de multímetros digitais.

Figura 11. Janelas de interface para controle do potenciostato e apresentação dos resultados.

Espectrofotômetro

Os espectros foram registrados com espectrofotômetro com detecção por *diode array* da Hewlett Parckard, modelo 8452A. A vantagem deste tipo de espectrofotômetro frente aos convencionais consiste na obtenção de espectros completos numa região espectral que varia de 190 a 820 nm em apenas 0,1 segundo e, no modo cinético, monitoramento da absorbância contra o tempo em até oito comprimentos de onda simultaneamente.

Bomba peristáltica

A propulsão das soluções através do sistema foi promovida por uma bomba peristáltica de quatro canais, marca *Ismatec* modelo *MS-Reglo*.

Injetor manual

A injeção de amostras no sistema foi realizada com o auxílio de injetor comutador manual (CENA, Piracicaba)^[207,208].

Dispositivo para remoção de bolhas

Remoção eficiente das bolhas foi conseguida através de dispositivo composto de duas peças acrílicas, entre as quais se justapôs papel de filtro com revestimento hidrófobo (PTFE), permeável a gases. O fluxo proveniente da célula entra em contato com uma das faces desta membrana enquanto a outra é mantida sob pressão inferior à atmosférica. Construído no próprio laboratório, o dispositivo representado na Figura 12, além de, praticamente, não aumentar o percurso entre a saída do injetor e a entrada da célula espectroeletroquímica, é de fácil construção e baixo custo, apresentando bom funcionamento em soluções aquosas.

Figura 12. Dispositivo para remoção de bolhas. (1) Peça cilíndrica de acrílico (diâmetro= 2.0 cm) com orifício para aspiração (pressão reduzida), (2) Membrana hidrófoba (PTFE - Millipore), (3) Espaçador (anel de borracha), (4) Peça cilíndrica de acrílico com orifício de entrada e saída do fluxo.

Compressor de ar

Um compressor de ar para aquário (Betta silente) foi utilizado, com função invertida, de modo a aspirar ar ao invés de propelir, para manter reduzida a pressão no dispositivo de remoção de bolhas.

Eletrodos

Para confecção das células espectroeletroquímicas foram utilizados como eletrodo de trabalho e auxiliar: filmes de Au obtidos a partir de certos tipos de CD-Rs (*Compact Disc-Recordable*)^[209]. Como eletrodos de referência foram utilizados eletrodos de Ag/AgCl (KCl_{sat.}) miniaturizados^[210].

Cubetas

Para a realização das medidas espectrofotométricas foram utilizadas cubetas acrílicas convencionais e de quartzo, ambas com caminho óptico de 10 mm.

ARRANJO EXPERIMENTAL

Para execução dos experimentos, foi montado sistema em fluxo, com monitoramento simultâneo das medidas eletroquímicas e espectrofotométricas, como se observa na Figura 13. Com este arranjo, o eletrólito é sempre impulsionado em direção à célula, mas o analito é aspirado para o interior da alça de amostragem somente quando o injetor é acionado, passando o sistema na maior parte do tempo a aspirar ar.

Figura 13. Esquema simplificado do arranjo experimental. (A) Eletrólito suporte (solução carregadora), (B) Solução de analito, (C) Bomba peristáltica, (D) Amortecedor pneumático, (E) Injetor comutador manual, (F) Dispositivo para remoção de bolhas, (G) Célula espectroeletroquímica, (H) Potenciostato, (I) Microcomputador, (J) espectrofotômetro HP-8452A, (K) descarte.

CAPÍTULO 5 - CONSTRUÇÃO E AVALIAÇÃO DA CÉLULA ESPECTROELETROQUÍMICA

DESENVOLVIMENTO E CONSTRUÇÃO DA CÉLULA ESPECTROELETROQUÍMICA

Com o intuito de utilizar a espectrofotometria de absorção na região UV-Vis com equipamentos comerciais, como técnica de detecção, procurou-se desenvolver células espectroeletroquímicas que pudessem ser facilmente adaptadas a cubetas com 1 cm de caminho óptico e desta forma serem diretamente acomodadas no compartimento do espectrofotômetro. Investidas iniciais no desenvolvimento de células de longo caminho óptico, em fluxo, tiveram sucesso parcial por terem esbarrado na dificuldade de construção e posicionamento dos eletrodos (de platina), que tem que ser planos, polidos e com dimensões exatas^[103].

A idéia original de aproveitar pedaços de CD-R com superfície de ouro como fonte de eletrodos para voltametria se deve a Angnes e colaboradores^[209]. Sua adequação para a construção de células espectroeletroquímicas foi descoberta durante o mestrado da autora desta tese e descrito no capítulo final da dissertação de mestrado^[126]. Estes eletrodos, constituídos de fino filme de ouro sobre base de policarbonato, são planos, podem ser facilmente cortados, dispensam pré-tratamento trabalhoso e podem, eventualmente, ser descartados após o uso, dado o seu baixo custo. Este método barato de obtenção de eletrodos de ouro vem se difundindo e tem grande potencialidade, pois esse metal nobre é largamente utilizado tanto de forma direta como após modificação da superfície^[211-218].

Para a confecção da célula espectroeletroquímica utilizou-se como eletrodos de trabalho e auxiliar, filmes de Au pré-existentes em certos tipos de CD-Rs (*Compact Disc Recordable*), Basf ou Toshiba de coloração dourada. Os CDs são constituídos de quatro camadas: base de policarbonato, filme orgânico fotossensível (cianina ou ftalocianina), filme de ouro onde se localizam as trilhas para o leitor óptico e finalmente uma camada protetora de filme polimérico. O filme de ouro tem espessura variável entre 50 e 100 nm, dependendo do fabricante, e área total de 100 cm²^[219]. A resistência elétrica do filme de ouro é de apenas 2,4 Ω cm²^[220].

A camada de filme polimérico existente sobre o filme de Au do CD é removida, com HNO₃ concentrado^[220]. Após lavagem com água destilada o Au-CDtrodo já se encontra pronto para uso, não havendo necessidade de nenhum outro pré-tratamento como polimento

e banho ultra-sônico, pois a superfície do eletrodo é perfeitamente regular e isenta de espécies adsorvidas. A partir de um único CD é possível obter vários Au-CDtrodos, tornando seu custo baixo e possibilitando o descarte do mesmo sob eventual avaria.

Para preencher o espaço das cubetas de 1,0 cm de caminho óptico, deixando interstício menor entre os eletrodos, dois pedaços de CD são recortados e colados com adesivo epóxi (Araldite) de secagem rápida sobre bases acrílicas, de modo que cada peça tenha como tamanho final 7,0 cm de comprimento x 1,0 cm de largura x 0,49 cm de espessura, aproximadamente.

Após a colagem do CD à placa acrílica, um canal fresado na parte posterior de cada uma das placas permite a passagem de tubos de polietileno, conectados a orifícios feitos na extremidade inferior dos eletrodos, como se vê na Figura 14. Um deles serve para introduzir a solução na célula e outro atua como ponte salina do eletrodo de referência de Ag/AgCl, de modo a ser o potencial monitorado no plano do eletrodo de trabalho. A cubeta permanece aberta na parte superior, dispensando qualquer tipo de vedação. A aspiração do líquido por um dos canais da bomba peristáltica, provido de tubo de diâmetro ligeiramente maior que o da injeção, impede a ocorrência de transbordamentos. O contato elétrico com cada eletrodo foi estabelecido pressionando contra a superfície de ouro uma fita adesiva de lâmina de cobre com auxílio de fita de PTFE enrolada em torno do conjunto. O fio condutor é ligado à fita de cobre com conector do tipo "jacaré".

A utilização de eletrodos de trabalho e auxiliar co-planares é uma inovação adicional desta célula, conseguida por se fazer ranhuras em forma de "L" no Au-CDtrodo que limita a área do eletrodos, conforme representado na Figura 14. Desta forma, o eletrodo de trabalho se estende do fundo da cubeta até a altura de 1,0 cm, imediatamente abaixo da região em que passa o feixe óptico do espectrofotômetro, ideal para operação em fluxo que, por ser ascendente, traz a amostra para a região de detecção depois de percorrida toda a extensão do eletrodo de trabalho. Para operação estacionária com detecção estritamente *in situ*, basta suspender a cubeta de alguns milímetros. Para que os processos ocorridos nos eletrodos não se sobreponham e sejam detectados espectrofotometricamente é importante que distância entre mesmos (correspondendo à região em que passa o feixe óptico) seja de pelo menos 0,5 cm de altura.

AVALIAÇÃO DA CÉLULA ESPECTROELETROQUÍMICA

MODOS ESTACIONÁRIO

Embora a célula espectroeletroquímica tenha sido projetada para operações em fluxo, ela também pode ser usada no modo estacionário, desde que suspensa, de forma que o feixe óptico percorra a região entre os 2 eletrodos de trabalho e não logo acima destes. Uma elevação de cerca de 3 mm é suficiente para que a detecção espectrofotométrica ocorra estritamente *in situ*. Sob esta condição foram realizados experimentos de voltametria cíclica de uma solução $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{-4}$ em NaNO_3 ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$). Os voltamogramas podem ser observados na Figura 15, onde se verifica o aumento e o afastamento entre os picos anódicos e catódicos em função da velocidade de varredura imposta ao sistema. O espaçamento entre os eletrodos para este experimento foi estimado em aproximadamente 0,5 mm, ou seja, não se trata de camada delgada para as velocidades de varredura consideradas.

Figura 15. Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura. Solução $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{-4}$ em NaNO_3 ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$). Distância entre os eletrodos de trabalho: 0,5 mm. Velocidades de varreduras indicadas na Figura.

Sabe-se que para processos reversíveis (ou quase-reversíveis) a corrente de pico I_p é proporcional à raiz quadrada da velocidade de varredura^[1]:

$$I_p \propto v^{1/2}$$

Observa-se na Figura 16 a relação linear entre a corrente de pico anódico, I_p , e a raiz quadrada da velocidade de varredura, $v^{1/2}$, comprovando a reversibilidade do sistema $\text{Fe(CN)}_6^{4-}/\text{Fe(CN)}_6^{3-}$.

Figura 16. Curva de I_p vs. $v^{1/2}$ (corrente de pico vs. (velocidade de varredura)^{1/2}). Solução $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Fe(CN)_6^{4-} em NaNO_3 ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$). $R = 0,996$.

Outra característica observada refere-se ao fato de que o $\Delta E_{\text{pa-pc}}$ (diferença entre os potenciais de pico anódico e catódico) também varia linearmente com $v^{1/2}$, como indicado na Figura 17.

Figura 17. Curva de ΔE_{pa-pc} vs. $V^{1/2}$. Solução $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Fe(CN)_6^{4-} em NaNO_3 ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$). $R = 0,998$.

A razão provável para este comportamento deve ser a resistência não compensada na célula. Embora o potencial seja medido no mesmo plano do eletrodo de trabalho (orifício do eletrodo de referência) e se utilize eletrólito concentrado, NaNO_3 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, e analito 1000 vezes mais diluído, ainda assim, não é possível assegurar superfície isopotencial em toda a superfície do eletrodo de trabalho, que tem um dos seus lados a 3 mm do eletrodo auxiliar e outro extremo a 13 mm, dando-se a condução por um fino filme de eletrólito.

Adaptações feitas na célula espectroeletroquímica permitem que se trabalhe em condição de camada delgada, de modo que a espessura da célula seja menor do que a da camada de difusão, promovendo eletrólise rápida e quantitativa. O voltamograma cíclico obtido sob esta condição pode ser observado na Figura 18.

Figura 18. Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura sob condição de camada delgada. Solução $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ em NaNO_3 ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$). Distância entre os eletrodos de trabalho: $100 \mu\text{m}$. Velocidades de varredura indicadas na figura.

Segundo a literatura^[1], reações reversíveis que ocorrem em camada delgada originam voltamogramas cíclicos totalmente simétricos, sem separação entre os picos anódicos e catódicos, nos quais a corrente de pico é proporcional a v e não a $v^{1/2}$. Embora o distanciamento entre os eletrodos, nesta situação, seja de aproximadamente $100 \mu\text{m}$, o que garante a condição de camada delgada, observa-se nos voltamogramas da Figura 18, mesmo para velocidades menores de varredura, discreta separação entre os potenciais de pico anódico e catódico, aproximadamente 24 mV para velocidade de varredura igual a 1 mV s^{-1} . Pode-se argumentar, novamente, que, entre os fatores que permitem explicar este comportamento figuram tanto a contribuição da resistência não compensada, que deve ter aumentado para filme de eletrólito tão fino, resultando em alguma queda de potencial (processo conhecido pelo nome de queda ôhmica), quanto à difusão de analito proveniente das laterais e do verso dos eletrodos (canal chanfrado). Todavia, o valor encontrado é semelhante ao apontado na literatura, 25 mV , para célula de camada delgada^[102].

A Figura 19 revela relação linear entre I_p e $v^{1/2}$, enquanto gráfico de I_p vs. v , esperado para esta geometria^[1], não se mostra linear, indicando a relevância do problema de "infiltração" nas laterais dos eletrodos. Ajuste mais rigoroso dos eletrodos a cubeta podem

ser feitos se a condição de camada delgada for indispensável, todavia deve-se considerar o risco de fraturas, extremamente oneroso no caso de cubetas de quartzo.

Figura 19. Curva de I_p vs. $v^{1/2}$. Solução $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $Fe(CN)_6^{-4}$ em $NaNO_3$ ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$).

Para este arranjo, em camada delgada, o ΔE_{pa-pc} também varia linearmente com a raiz quadrada da velocidade de varredura, $v^{1/2}$, como se verifica na Figura 20.

Figura 20. Curva de ΔE_{pa-pc} vs. $v^{1/2}$. Solução $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $Fe(CN)_6^{+3}$ em $NaNO_3$ ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$).

Outra potencialidade interessante explorada com a célula espectroeletroquímica, em operação estacionária, refere-se ao seu uso para a realização de experimentos

cronoamperométricos, através da aplicação de um pulso de potencial e acompanhamento da corrente em função do tempo, como se observa na Figura 21.

Figura 21. Cronoamperogramas. Solução $1,06 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Fe(CN)_6^{-4} em NaNO_3 ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$). Pulso de potencial: - 0,200 para 0,600 V vs. Ag/AgCl. Distância entre os eletrodos de trabalho: $100 \mu\text{m}$.

A curva em azul da Figura 21 é a resultante da diferença entre os cronoamperogramas registrados somente com a solução de eletrólito suporte e na presença de Fe(CN)_6^{-4} . A integral, ou a área, sob esta curva fornece a carga despendida no processo, a saber 1,51 mC. Com este valor em mãos e sabendo tanto a concentração de Fe(CN)_6^{-4} , como o volume da célula, calculado geometricamente ($13,5 \mu\text{L}$), chega-se ao número de elétrons envolvidos, de 0,95, que pode ser arredondado para a unidade.

A realização experimentos cronoamperométricos e cronoabsorciométricos simultâneos, Figura 22, permitiu que se estimasse o tempo total de eletrólise do material na camada delgada da célula. Considerando que o valor máximo de absorbância registrado corresponda à conversão total da o-tolidina, o tempo necessário para que isto ocorra é de apenas 20 segundos, para espaçamento de $200 \mu\text{m}$ entre os eletrodos de trabalho.

Figura 22. Cronoamperograma e cronoabsorciograma. Solução $1,20 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de *o*-tolidina em CH_3COOH ($0,125 \text{ mol L}^{-1}$) e HClO_4 ($0,25 \text{ mol L}^{-1}$). Pulso de potencial: 0,800 a $-0,300 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl. Absorbância medida em 438 nm. Tempo total de eletrólise na célula: 20 s. Distância entre os eletrodos de trabalho: $200 \mu\text{m}$.

MODO HIDRODINÂMICO

Montado o sistema como descrito na seção arranjo experimental, deu-se início à avaliação da célula espectroeletroquímica. Primeiramente, em fluxo contínuo, foi examinado o comportamento espectroeletroquímico da *o*-tolidina e do $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, ambos no intervalo de 190 nm a 820 nm.

A *o*-tolidina apresenta duas bandas de absorção características, uma delas, estreita e intensa com máximo definido ao redor de 250 nm, encontra-se presente independentemente do estado de oxidação da molécula e outra, mais larga, com máximo definido ao redor de 438 nm que corresponde ao produto de sua oxidação eletroquímica, como se observa na Figura 23.

Figura 23. Representação tridimensional da mudança espectral durante a eletro-oxidação em fluxo de uma solução $5,14 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de *o*-tolidina em CH_3COOH ($0,125 \text{ mol L}^{-1}$) e HClO_4 ($0,25 \text{ mol L}^{-1}$). Fluxo contínuo: $0,7 \text{ mL min}^{-1}$.

O voltamograma e o voltabsorciograma hidrodinâmicos podem ser observados na Figura 24, onde os valores de corrente foram multiplicadas por 10, para melhor ajuste de escala.

Figura 24. Voltamograma e voltabsorciograma hidrodinâmicos. Solução $5,14 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de *o*-tolidina em CH_3COOH ($0,125 \text{ mol L}^{-1}$) e HClO_4 ($0,25 \text{ mol L}^{-1}$). Fluxo contínuo: $0,7 \text{ mL min}^{-1}$.

Com o voltamograma e o voltabsorciograma hidrodinâmicos foi possível determinar o potencial de meia onda ($E_{1/2}$) da *o*-tolidina através da derivada primeira de ambas as curvas. Os respectivos valores, obtidos para a curva de corrente e absorbância em função do potencial aplicado, 0,630 V e 0,635 V vs. Ag/AgCl, apresentam excelente concordância com os valores reportados na literatura^[33], 0,635 V vs. Ag/AgCl, no mesmo eletrólito.

O ferrocianeto apresenta absorção entre 250 e 350 nm, com um pico ao redor de 280 nm e um ombro ao redor de 320 nm. Durante a oxidação, estas bandas se intensificam e uma terceira banda (apenas perceptível na forma oxidada) surge em 420 nm, como se verifica na **Figura 25**. Na Figura 26, onde o voltabsorciograma construído para $\lambda = 420$ nm foi sobreposto ao voltamograma hidrodinâmico.

Figura 25. Representação tridimensional da mudança espectral durante a eletro-oxidação. Solução $1,06 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ em KCl ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$). Fluxo contínuo: $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Incrementos não constantes de potencial.

Figura 26. Voltamograma e voltabsorciograma hidrodinâmicos. Solução $1,06 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ em KCl ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$). Fluxo contínuo: $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Incrementos não constantes de potencial.

O potencial de meia onda ($E_{1/2}$) do $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ foi estimado em $0,243 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, já o valor de $A_{1/2}$, que neste caso deve coincidir com o valor de $E_{1/2}$, foi de $0,249 \text{ V vs. Ag/AgCl}$. Os valores encontrados, tanto pelo voltamograma quanto pelo voltabsorciograma, são concordantes com o valor reportado na literatura^[83], $0,250 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, no mesmo eletrólito.

Um fator importante quando se visa a aplicabilidade de uma célula refere-se à eficiência de conversão eletroquímica, que foi avaliada através de experimento simples que consistiu em registrar a corrente e a absorbância ao se impor um potencial de $0,800 \text{ V}$ ao sistema em fluxo para, após 200 s , interromper o fluxo. Considerando que o valor máximo de absorbância registrado corresponda à conversão total da *o*-tolidina, estimou-se que a eficiência de conversão eletroquímica da célula quando operada em fluxo nas condições indicadas pela legenda da Figura 27 (vazão igual a $0,9 \text{ mL min}^{-1}$ e distanciamento entre os eletrodos de $300 \mu\text{m}$), é de cerca de 30%. Naturalmente, a eficiência aumenta com a diminuição da vazão (tornando os experimentos mais demorados) bem como com a redução na espessura da camada delgada (aumentando o ruído das medidas de absorbância, devido ao bloqueio maior do feixe de luz do espectrofotômetro).

Figura 27. Corrente e absorvância vs. tempo. Solução de *o*-tolidina $1,09 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em CH_3COOH ($0,125 \text{ mol L}^{-1}$) e HClO_4 ($0,250 \text{ mol L}^{-1}$). Potencial aplicado: $0,800 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl . Vazão: $0,9 \text{ mL min}^{-1}$ até 200 s. Distância entre os eletrodos de trabalho: $300 \mu\text{m}$. Absorvância medida em 438 nm .

Como primeiro ensaio no modo FIA realizou-se varredura de potencial na faixa de $0,500$ à $1,000$ volts, com incrementos constantes de $0,020 \text{ V}$ e, ao invés de bombear continuamente o analito, (condição utilizada nas Figura 23 e 24), realizou-se injeções em duplicata. Os picos de cada injeção definem claramente o perfil da onda voltamétrica e voltabsorciométrica. Observa-se, na Figura 28, que as medidas de absorvância são mais seletivas, vez que são imunes à corrente residual e pouco influenciadas pelo processo paralelo que ocorre nos potenciais mais elevados, indicando tão somente a eletro-oxidação da *o*-tolidina.

Figura 28. Corrente e absorvância vs. tempo, modo FIA. Solução de *o*-tolidina $1,14 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em CH_3COOH ($0,125 \text{ mol L}^{-1}$) e HClO_4 ($0,250 \text{ mol L}^{-1}$). Intervalo de potencial: $0,500 - 1,000 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl . Incremento de potencial: $0,020 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl . Vazão: $1,3 \text{ mL min}^{-1}$. Alça de amostragem: $300 \mu\text{L}$. Absorvância medida em 438 nm .

A repetibilidade do sistema foi avaliada através de sucessivas injeções de *o*-tolidina à vazão e potencial constantes, como se observa na Figura 29. Em um total de 15 injeções, observou-se desvio padrão relativo para absorvância e corrente de apenas 0,46% e 0,86%, respectivamente. A baixa frequência de amostragem, 18 determinações por hora, se deve ao

tempo consumido para a lavagem da célula, entretanto este valor pode ser diminuído com vazões mais elevadas.

Figura 29. Corrente e Absorbância vs. tempo, no modo FIA. Solução de *o*-tolidina $1,09 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em CH_3COOH ($0,125 \text{ mol L}^{-1}$) e HClO_4 ($0,250 \text{ mol L}^{-1}$). Potencial aplicado: $0,800 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl . Vazão: $0,9 \text{ mL min}^{-1}$. Alça de amostragem: $300 \text{ }\mu\text{L}$. Corrente média: $11,63 \text{ }\mu\text{A}$. DPR: $0,86 \%$. Absorbância média (438 nm): $0,442$. DPR: $0,46 \%$.

Para a construção da curva analítica observou-se a influência da concentração nos valores de corrente e absorbância, procurando-se trabalhar em faixas de concentração que apresentassem comportamento linear. Na Figura 30 é possível observar os picos de corrente e absorbância, obtidos no modo FIA, para a injeções de soluções com concentrações que variaram entre $12,0$ e $112 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$.

Com os resultados obtidos na Figura 30, foi possível construir as curvas analíticas para as respostas eletroquímica e espectrofotométrica. Os resultados podem ser vistos na Figura 31, onde cada ponto no gráfico se refere à média dos três valores obtidos no modo FIA. Os coeficientes de correlação obtidos para as medidas de corrente e absorbância foram de $0,999$, em ambos os casos.

Figura 30. Efeito da concentração, em gráficos de corrente e absorvância vs. tempo, modo FIA. Solução de *o*-tolidina em CH_3COOH ($0,125 \text{ mol L}^{-1}$) e HClO_4 ($0,250 \text{ mol L}^{-1}$). Potencial aplicado: $0,800 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl . Vazão: $1,35 \text{ mL min}^{-1}$. Alça de amostragem: $300 \text{ }\mu\text{L}$. Absorvância medida em 438 nm . Valores de concentração iguais ao da Figura 31.

Figura 31. Curvas analíticas, corrente e absorvância vs. concentração. Solução de *o*-tolidina em CH_3COOH ($0,125 \text{ mol L}^{-1}$) e HClO_4 ($0,250 \text{ mol L}^{-1}$). Potencial aplicado: $0,800 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl . Vazão: $1,3 \text{ mL min}^{-1}$. Alça de amostragem: $300 \text{ }\mu\text{L}$. Absorvância medida em 438 nm . Coeficientes de correlação: $0,999$ e $0,999$.

A influência da vazão nas medidas de corrente e absorvância também foi avaliada, entre 0,5 e 2,5 mL min⁻¹, como se observa na Figura 32.

Figura 32. Efeito da vazão, em gráficos de corrente e absorvância vs. tempo. Solução de *o*-tolidina: $8,94 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em CH_3COOH ($0,125 \text{ mol L}^{-1}$) e HClO_4 ($0,250 \text{ mol L}^{-1}$). Potencial aplicado: 0,800 V vs. Ag/AgCl. Alça de amostragem: 300 µL. Absorvância medida em 438 nm. Valores de vazão iguais aos da Figura 33.

À partir dos resultados da Figura 32, construiu-se a Figura 33, onde os valores de corrente e de absorvância são representados em função da vazão. Observa-se que o aumento da vazão vem acompanhado de maior contribuição do transporte convectivo do analito para a superfície do eletrodo de trabalho, causando um crescimento da corrente registrada (Figura 33). Contudo, em termos da área sob o pico, que corresponde à carga transferida, o aumento de altura não compensa o estreitamento do pico, ou seja, com o aumento da vazão a quantidade de produto formado é menor e se encontra diluído num volume maior, explicando a queda da absorvância.

O efeito do volume injetado, numa faixa que variou entre 50 e 500 µL, também foi avaliado, Figura 34. Observa-se na Figura 35, que a corrente e a absorvância variam linearmente com o volume injetado. Assim, quando necessário, pode-se incrementar a sensibilidade injetando volumes mais altos, ou privilegiar a frequência analítica, fazendo injeções menores.

Figura 33. Corrente e absorbância vs. vazão. Solução de *o*-tolidina: $8,94 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em CH_3COOH ($0,125 \text{ mol L}^{-1}$) e HClO_4 ($0,250 \text{ mol L}^{-1}$). Potencial aplicado: 0,800 V vs. Ag/AgCl. Alça de amostragem: 300 μL. Absorbância medida em 438 nm.

Figura 34. Efeito do volume injetado, em gráfico de corrente e absorbância vs. tempo. Solução de *o*-tolidina: $8,94 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em CH_3COOH ($0,125 \text{ mol L}^{-1}$) e HClO_4 ($0,250 \text{ mol L}^{-1}$). Potencial aplicado: 0,800 V vs. Ag/AgCl. Vazão: $1,8 \text{ mL min}^{-1}$. Absorbância medida em 438 nm. Volumes de amostras iguais aos da Figura 35.

Figura 35. Corrente e absorbância vs volume injetado. Solução de *o*-tolidina: $8,94 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em CH_3COOH ($0,125 \text{ mol L}^{-1}$) e HClO_4 ($0,250 \text{ mol L}^{-1}$). Potencial aplicado: $0,900 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl . Vazão: $1,8 \text{ mL min}^{-1}$. Absorbância medida em 438 nm . Coeficientes de correlação: $0,999$ e $0,998$.

CONCLUSÕES PARCIAIS

O uso de eletrodos de filme de Au, os Au-CDtrodos, é completamente inovador na construção de células espectroeletroquímicas. Estes eletrodos podem ser facilmente cortados, apresentam superfície plana, regular e isenta de espécies adsorvidas, dispensam pré-tratamento trabalhoso, proporcionando custo final bastante inferior a qualquer outro modelo proposto.

A célula espectroeletroquímica de longo caminho óptico, desenvolvida durante o mestrado e aperfeiçoada neste trabalho, destaca-se quanto à facilidade de construção e capacidade de adaptação à instrumentação comercial existente, podendo ser montada dentro de qualquer cubeta, acrílica ou de quartzo, comercial com 1 cm de caminho óptico. Os materiais necessários para sua montagem são baratos e largamente disponíveis, e a possibilidade de se trabalhar com os Au-CDtrodos, que podem, eventualmente, ser descartados após o uso, dado o seu baixo custo, constitui atrativo ainda maior para sua reprodução. Adicionalmente, com a elevação da célula no compartimento do espectrofotômetro, há a possibilidade de se trabalhar tanto em sistema estacionário, com detecção estritamente *in situ*, como em fluxo, com vantagem de se poder combinar a técnica à metodologia utilizada na análise por injeção em fluxo (FIA).

A célula espectroeletroquímica permite controle adequado do potencial do eletrodo de trabalho com curto tempo de eletrólise, além de proporcionar alta sensibilidade óptica, com operação estável e reprodutível. A dupla área efetiva do eletrodo de trabalho mostrou-se capaz de proporcionar, sob condições hidrodinâmicas utilizadas – vazão: $0,9 \text{ mL min}^{-1}$ e distância entre os eletrodos $300\mu\text{m}$ - eficiência de conversão eletroquímica de cerca de 30%. Com esta taxa de conversão, a rigor, a célula só alcança a condição de camada delgada quando operada de forma estacionária, visto que sob fluxo, o tempo de residência é insuficiente para que ocorra conversão total do analito. Diminuição da distância entre os eletrodos co-planares pode aumentar a fração convertida, mas, dependendo do espectrofotômetro, pode levar à interceptação excessiva do feixe óptico, com conseqüente piora na relação sinal/ruído, ou mesmo, insuficiência de luz para operação.

Estes resultados foram divulgados mediante publicação de artigo científico^[221].

CAPÍTULO 6 – ESTUDO DO PROCESSO DE OXIDAÇÃO DE DERIVADOS FENOTIAZÍNICOS

ESTUDO DO PROCESSO DE OXIDAÇÃO DE DERIVADOS FENOTIAZÍNICOS

Desde que foram desvendadas as propriedades neurolépticas de alguns derivados fenotiazínicos diversos compostos estão sendo empregados não só como recurso terapêutico no tratamento de distúrbios mentais e seus sintomas, mas também como tranquilizantes, anti-histamínicos e antieméticos, entre outras aplicações^[133]. O mecanismo de ação desta classe de compostos tem sido objeto de estudo desde sua introdução em 1950. Acredita-se que a droga interaja com os receptores de dopamina e que o cátion radicalar formado durante a primeira etapa de oxidação seja um importante intermediário no metabolismo da droga e o responsável por sua atividade farmacológica^[135].

A literatura apresenta várias propostas sobre o mecanismo de oxidação de derivados fenotiazínicos^[134] sem, entretanto, chegar a um consenso sobre os produtos formados, visto que o grupo substituinte da cadeia lateral e as condições experimentais exercem grande influência sobre os resultados. Neste caso, a correlação de informações espectroscópicas e eletroquímicas pode auxiliar a compreensão do mecanismo, permitindo maior esclarecimento e entendimento sobre os processos envolvidos.

Na tentativa de compreender melhor os mecanismos de oxidação realizou-se um estudo comparativo entre três diferentes derivados fenotiazínicos: a prometazina, a clorpromazina e a clorpromazina em diferentes meios de trabalho. A estrutura dos três derivados fenotiazínicos estudados pode ser observada na Figura 36.

Figura 36. Estrutura química dos compostos utilizados no estudo comparativo do processo de oxidação de derivados fenotiazínicos.

Utilizando a célula espectroeletroquímica de longo caminho óptico descrita na seção experimental, foram examinados o comportamento espectroeletroquímico da prometazina, clorpromazina e promazina, em fluxo contínuo, no intervalo de 350 a 650 nm em três diferentes meios de trabalho: solução tampão HOAc/NaOAc (1/1 mol L⁻¹ - pH 4,7) e H₂SO₄ (0,1 e 2,0 mol L⁻¹). Os espectros de absorção plotados em função do potencial aplicado (voltabsorciogramas), sob as mesmas condições experimentais, podem ser observados nas Figuras 37, 38 e 39.

Característica comum aos espectros apresentados nas Figuras 37, 38 e 39 é a presença de uma banda de absorção com $\lambda_{\text{máx}} = 514$ nm para a prometazina, $\lambda_{\text{máx}} = 512$ nm para a promazina e $\lambda_{\text{máx}} = 524$ nm para a clorpromazina. A literatura atribui esta banda ao cátion radicalar formado durante a primeira etapa de oxidação destes derivados^[134]. A dessemelhança fica por conta da prometazina, que além da banda correspondente a primeira etapa de oxidação, apresenta em solução tampão HOAc/NaOAc (1/1 mol L⁻¹ - pH 4,7) e H₂SO₄ (0,1 mol L⁻¹) outra banda em $\lambda_{\text{máx}} = 420$ nm, não observada para os outros dois derivados.

Meio de trabalho: H_2SO_4 2,0 mol L^{-1}

Prometazina

Promazina

Clorpromazina

Figura 37. Soluções: $6,9 \cdot 10^{-4}$ mol L^{-1} prometazina; $7,5 \cdot 10^{-4}$ mol L^{-1} promazina e $6,4 \cdot 10^{-4}$ mol L^{-1} clorpromazina, em 2,0 mol L^{-1} H_2SO_4 . Fluxo contínuo: 1,0 mL min^{-1} . Potencial aplicado (incrementos não constantes): 0,300 – 1,000 Volts vs. Ag/AgCl.

Meio de trabalho: H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$

Prometazina

Promazina

Clorpromazina

Figura 38. Soluções: $6,4 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ prometazina; $6,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ promazina e $8,6 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ clorpromazina, em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$. Fluxo contínuo: $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Potencial aplicado (incrementos não constantes): 0,300 – 1,000 Volts vs. Ag/AgCl.

Meio de trabalho: Tampão HOAc/NaOAc (pH 4,7)

Prometazina

Promazina

Clorpromazina

Figura 39. Soluções: $5,1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ prometazina; $5,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ promazina e $4,8 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ clorpromazina, em $1/1 \text{ mol L}^{-1}$ de solução tampão HOAc/NaOAc (pH 4,7). Fluxo contínuo: $1,0 \text{ mL min}^{-1}$.
¹. Potencial aplicado (incrementos não constantes): 0,300 – 1,000 Volts vs. Ag/AgCl.

É interessante notar na Figura 37 que todos os derivados já apresentam bandas de absorção antes mesmo da oxidação eletroquímica. A princípio, por se acreditar que este fato pudesse ser atribuído a alguma contaminação ou a presença de oxigênio atmosférico que estaria provocando a oxidação dos derivados fenotiazínicos, as soluções foram novamente preparadas utilizando solução H_2SO_4 $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ desoxigenada. Entretanto, mesmo após essa precaução, o surgimento de bandas de absorção antes da oxidação eletroquímica continuava sendo observado. Possível explicação para este acontecimento está na propriedade de foto-ionização destes compostos. Sob irradiação UV, alguns derivados fenotiazínicos sofrem foto-ionização em solução aquosa gerando o cátion radicalar e elétron solvatado^[148,222,223], como se observa no esquema da Figura 40. Ressalte-se que devido ao tipo de espectrofotômetro e ao modo de operação utilizado (monocromador após a cubeta, lâmpada de xenônio com obturador aberto), todo o espectro da fonte de radiação incide continuamente sobre a amostra.

Figura 40. Reação de foto-ionização de derivados fenotiazínicos.

A existência de duas bandas espectroscopicamente distintas observada somente para a prometazina é explicada por alguns autores como sendo causada pela agregação reversível do radical. De acordo com McCreery *et al.*^[141], a existência destas duas bandas de absorção, em $\text{pH} < 3$, deve-se à formação de um dímero proveniente da oxidação ou do desproporcionamento do cátion radicalar. Esta suposição é sustentada por um gráfico onde se plota o logaritmo da absorbância medida em $\lambda = 420 \text{ nm}$ contra o logaritmo da absorbância medida em $\lambda = 514 \text{ nm}$ e se obtém uma reta com uma inclinação igual a 2,01. Segundo o autor do trabalho, o valor encontrado (2,01) prova que o agregado formado e observado em $\lambda = 420 \text{ nm}$ é um dímero. Todavia, dados coletados para a prometazina a partir dos espectros da Figura 38, sob as condições indicadas na legenda, foram utilizados para a construção do gráfico que pode ser observado na Figura 41, que também define uma reta, mas com

inclinação de apenas 1,2. O mesmo gráfico, construído para a prometazina a partir dos espectros da Figura 39, sob as condições indicadas na legenda define uma reta com inclinação de 0,7. Ambos os valores são muito pequenos para considerar que o produto formado possa ser um dímero.

Figura 41. Logaritmo da absorbância medida em 514 nm contra o logaritmo da absorbância medida em 420 nm. Solução $6,4 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de prometazina em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$. Condições experimentais iguais a da Figura 38.

Estudos eletroanalíticos com derivados fenotiazínicos em eletrodo de ouro rigorosamente limpo e ativado por ciclagem em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 , mencionam uma segunda etapa de oxidação em potenciais mais elevados, 1,2 V contra ECS com formação de um dicátion radicalar do sulfóxido^[183], evidenciado pela coloração amarela da solução. Embora a banda em $\lambda = 420 \text{ nm}$ já seja observada a 0,850 V contra Ag/AgCl, decidiu-se utilizar uma célula espectroeletroquímica que permitisse excursionar em regiões mais elevadas de potencial (sob eventual decomposição do solvente).

Utilizando uma célula, desenvolvida durante o mestrado^[126], que emprega eletrodo de Pt combinado à fibras de carbono, foi possível observar o comportamento espectroeletroquímico da prometazina numa faixa mais ampla de potencial (0,200 a 1,600 V vs. Ag/AgCl) e de espectro (190 a 820 nm), como se verifica na Figura 42.

Figura 42. Representação tri-dimensional da mudança espectral da prometazina durante eletro-oxidação. Fluxo contínuo: $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Solução $0,6 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ prometazina em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$. Potencial aplicado (em incrementos não constantes): 0,200 a 1,600 Volts vs. Ag/AgCl.

Os espectros registrados na Figura 42 permitem verificar, além das bandas em $\lambda = 420$ e 514 nm , a presença de outro produto de oxidação, em $\lambda = 332 \text{ nm}$. Os voltabsorciogramas hidrodinâmicos para estas bandas são apresentados na Figura 43. Verifica-se que acima de $0,800 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, as bandas com máximo em $\lambda = 420$ e 524 nm caem em função do potencial aplicado, enquanto a banda em $\lambda = 332 \text{ nm}$ continua em ascensão. Este fato também é relato por outros pesquisadores na literatura^[190,191] e é atribuído à formação do sulfóxido, produto final da reação de oxidação. Sob as condições de estudo nenhum outro produto pode ser observado nesta região do espectro, mesmo em potenciais mais elevados.

Figura 43. Voltabsorpciogramas hidrodinâmicos. Solução $0,6 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ prometazina em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$. Fluxo contínuo: $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Potencial aplicado: 0,200 a 1,600 Volts vs. Ag/AgCl.

Explicação alternativa para a banda em $\lambda = 420 \text{ nm}$ é a de formação de um dicátion. Estudos sobre a transferência eletrônica de derivados fenotiazínicos relatados na literatura^[148] descrevem a oxidação como um mecanismo de transferência de um elétron em duas etapas. A primeira banda de absorção, com máximo em $\lambda = 516 \text{ nm}$, é associada à formação do cátion radicalar, enquanto a outra banda, com máximo em $\lambda = 444 \text{ nm}$, é atribuída à formação do dicátion. Estes argumentos são sustentados por espectros Raman e ESR ressonante. Resultados similares foram relatados para derivados fenoxazínicos^[224].

Complementando os espectros coletados potenciostaticamente (Figuras 37, 38 e 39), registraram-se voltamogramas cíclicos que podem ser observados nas Figuras 44, 45 e 46.

Meio de trabalho: H_2SO_4 2,0 mol L^{-1}

Prometazina

Promazina

Clorpromazina

Figura 44. Voltamogramas cíclicos. Soluções $6,9 \cdot 10^{-4}$ mol L^{-1} de prometazina; $7,5 \cdot 10^{-4}$ mol L^{-1} de promazina e $6,4 \cdot 10^{-4}$ mol L^{-1} de clorpromazina, em 2,0 mol L^{-1} H_2SO_4 . Célula operada em modo estacionário. Velocidade de varredura: 5 mV s^{-1} .

Meio de trabalho: H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$

Prometazina

Promazina

Clorpromazina

Figura 45. Voltamogramas cíclicos. Soluções $5,4 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de prometazina; $5,6 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de promazina e $5,1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de clorpromazina, em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$. Célula operada em modo estacionário. Velocidade de varredura: 5 mV s^{-1} .

Meio de trabalho: Tampão HOAc/NaOAc (pH 4,7)

Prometazina

Promazina

Clorpromazina

Figura 46. Voltamogramas cíclicos. Soluções $5,8 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de prometazina; $5,7 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de promazina e $6,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de clorpromazina, em $1/1 \text{ mol L}^{-1}$ de solução tampão HOAc/NaOAc (pH 4,7). Célula operada em modo estacionário. Velocidade de varredura: 5 mV s^{-1} .

Em meio fortemente ácido (H_2SO_4 - $2,0 \text{ mol L}^{-1}$), uma única onda anódica e catódica é observada para os três derivados estudados (Figura 44). Devido à foto-ionização destes compostos, parte do material já se encontra oxidado, justificando a inclinação observada nos voltamogramas cíclicos. À medida que se aumenta o pH, foi verificado, além de pequenas variações nos potenciais de oxidação da clorpromazina e da promazina, o surgimento de uma segunda onda anódica para a prometazina. Os valores de $E_{1/2}$, potencial de meia onda, para os três compostos são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Valores de potencial de meia onda ($E_{1/2}$ em V vs. Ag/AgCl) dos derivados fenotiazínicos.

	Prometazina	Promazina	Clorpromazina
H_2SO_4 ($2,0 \text{ mol L}^{-1}$)	0,68	0,58	0,53
H_2SO_4 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$)	0,45 e 0,73*	0,60	0,65
Tampão (pH= 4,7)	0,43 e 0,74*	0,65*	0,75*

* Apenas potencial de onda anódica, processo irreversível.

Para determinar o número de elétrons envolvidos na oxidação eletroquímica destes compostos, foram registrados cronoamperogramas e respectivos cronoabsorciogramas, como se observa nas Figuras 47, 48 e 49. Outros dois comprimentos de onda além do referente à formação do cátion radicalar foram monitorados, 420 e 780 nm. Comparação entre os valores de absorbância, neste dois comprimentos de onda, permitiu verificar quando a banda com máximo de absorção em 420 nm é espectroscopicamente distinta da banda referente à formação do cátion radical e quando se trata apenas de um alargamento.

Meio de trabalho: H_2SO_4 2,0 mol L^{-1}

Prometazina

Promazina

Clorpromazina

Figura 47. Soluções $7,3 \cdot 10^{-4}$ mol L^{-1} de prometazina; $7,7 \cdot 10^{-4}$ mol L^{-1} de promazina e $7,0 \cdot 10^{-4}$ mol L^{-1} de clorpromazina, em 2,0 mol L^{-1} H_2SO_4 . Célula operada em modo estacionário. Pulso de potencial: 0,000 $\rightarrow$ 0,800 $\rightarrow$ 0,000 V vs. Ag/AgCl. Distância entre os eletrodos de trabalho: 100 μm para a prometazina e a clorpromazina, e 160 μm para promazina.

Meio de trabalho: H_2SO_4 0,1 mol L^{-1}

Prometazina

Promazina

Clorpromazina

Figura 48. Soluções $5,1 \cdot 10^{-4}$ mol L^{-1} de prometazina; $5,5 \cdot 10^{-4}$ mol L^{-1} de promazina e $4,9 \cdot 10^{-4}$ mol L^{-1} de clorpromazina, em 2,0 mol L^{-1} H_2SO_4 . Célula operada em modo estacionário. Pulso de potencial: 0,000 $\rightarrow$ 0,800 $\rightarrow$ 0,000 V vs. Ag/AgCl. Distância entre os eletrodos de trabalho: 100 μm .

Meio de trabalho: Tampão HOAc/NaOAc (pH 4,7)

Prometazina

Promazina

Clorpromazina

Figura 49. Soluções $5,8 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de prometazina; $5,7 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de promazina e $6,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de clorpromazina, em $1/1 \text{ mol L}^{-1}$ de solução tampão HOAc/NaOAc (pH 4,7). Célula operada em modo estacionário. Pulso de potencial: $0,000 \rightarrow 0,800 \rightarrow 0,000 \text{ V vs. Ag/AgCl}$. Distância entre os eletrodos de trabalho: $100 \mu\text{m}$.

As curvas de corrente das Figuras 47, 48 e 49 referem-se à resultante da diferença entre os cronoamperogramas registrados somente com a solução de eletrólito suporte e na presença do derivado fenotiazínico. Considerando que, sob as condições experimentais trabalhadas, no modo estacionário, a célula tenha operação coulométrica, a integral, ou a área, sob a curva de corrente em função do tempo, fornece uma estimativa da carga despendida no processo. Na Tabela 2, são apresentados os valores de carga e do número de elétrons calculados, para os pulsos crescentes de potencial, referente as curvas das Figuras 47, 48 e 49.

Tabela 2. Valores de carga e número de elétrons, calculados a partir dos cronoamperogramas dos derivados fenotiazínicos apresentados nas Figuras 47, 48 e 49, em modo estacionário.

		H_2SO_4 2,0 mol L ⁻¹		H_2SO_4 0,1 mol L ⁻¹		Tampão (pH 4,7)	
Pulso		1º	2º	1º	2º	1º	2º
Prometazina	Carga (mC)	7,35	6,25	8,68	6,90	18,12	9,20
	nº elétrons	1,16	0,98	1,75	1,40	3,24	1,64
Promazina	Carga (mC)	13,81	11,78	5,61	5,82	6,67	5,46
	nº elétrons	1,21	1,03	1,05	1,08	1,20	0,99
Clorpromazina	Carga (mC)	5,84	4,90	5,26	4,47	4,94	4,26
	nº elétrons	0,96	0,81	1,12	0,95	0,85	0,73

Apreciação sobre os valores apresentados na Tabela 2 revela que, independentemente do meio de trabalho escolhido, a promazina e a clorpromazina apresentam como número de elétrons envolvidos no processo valor próximo a unidade. Já para a prometazina foi observado um aumento do número de elétrons em função do meio, ou seja, à medida que há um aumento no valor do pH, este é acompanhado pelo aumento do número de elétrons, chegando a um total de três elétrons em solução tampão (pH 4,7), indicando uma possível sobreposição de processos.

Considerando apenas a estrutura comum aos derivados fenotiazínicos estudados e as informações contidas na literatura sobre o mecanismo de oxidação destes compostos^[134,154], que o processo se dá em duas etapas sucessivas e distintas, é razoável esperar que os intermediários formados sejam os mesmos. Na Figura 50 é apresentado o possível mecanismo de oxidação destes compostos, com as respectivas estruturas de ressonância. É interessante notar que a forma duplamente oxidada apresenta, entre as possíveis estruturas de ressonância, um dicátion diradical. A instabilidade desta espécie faz com que o dicátion, por ser um híbrido suas estruturas ressonantes, também seja instável.

Figura 50. Provável mecanismo de oxidação de derivados fenotiazínicos.

Se as estruturas apresentadas na Figura 50 estiverem corretas, pode-se afirmar que os intermediários formados, para os três derivados estudados, são os mesmos. Desta forma, investigar como a presença dos grupos substituintes nas posições 2 e 10, ou R e X na Figura 50, influencia a formação de produtos de oxidação, pode ajudar a esclarecer as diferenças observadas no comportamento destes compostos.

Os três derivados fenotiazínicos, considerados neste trabalho, apresentam um grupo amina em sua cadeia lateral (R). O valor de pK_a do nitrogênio tiazínico é de $-2^{[141]}$, os valores de pK_a do grupo amina da cadeia lateral (R) são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Valores de pK_a do grupo amina dos derivados fenotiazínicos estudados.

Derivado Fenotiazínico	Grupo R	Grupo X	Valor de pK_a
Prometazina	$CH_2CH(CH_3)N(CH_3)_2$	H	9,1
Promazina	$CH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$	H	9,4
Clorpromazina	$CH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$	Cl	9,3

Conclui-se pelos valores de pK_a apresentados na Tabela 3 que, nas condições usualmente utilizadas neste trabalho, o grupo amina da cadeia lateral encontra-se sempre protonado. Em valores de pH abaixo de 0 (zero), como em H_2SO_4 2,0 mol L^{-1} , por exemplo, o nitrogênio tiazínico estará parcialmente protonado. Todavia, os valores de pK_a do grupo amina da cadeia lateral são muito próximos entre si para que possam ser apontados como responsáveis pelas diferenças voltamétricas e espectroscópicas observadas.

Outro fato que deve ser observado refere-se ao comprimento da cadeia lateral. Enquanto a promazina e a clorpromazina apresentam cadeia lateral alifática com três átomos de carbonos, a prometazina apresenta apenas dois. Aparentemente, a proximidade do anel altamente “carregado” em sua forma oxidada, diminui o pK_a do grupo amina da cadeia lateral causando sua desprotonação^[141]. Esta amina, estando desprotonada, pode interagir com a nuvem eletrônica do anel fenotiazínico e auxiliar na estabilização da forma duplamente oxidada, o dicátion. No caso da prometazina, esta interação eletrônica é, provavelmente, favorecida pela proximidade dos grupos e responsável pela banda observada em $\lambda=420$ nm.

A presença de três carbonos na cadeia lateral é suficiente para isolar o grupo amina dos efeitos da oxidação no anel sendo por este motivo o dicátion observado apenas para a prometazina.

CONCLUSÕES PARCIAIS

No estudo comparativo realizado entre a prometazina, a promazina e a clorpromazina, a combinação de informações eletroquímicas e espectroscópicas obtidas *in-situ*, pela técnica descrita, contribuiu para melhor compreensão e esclarecimento dos mecanismos de oxidação envolvidos.

Verificou-se que em H_2SO_4 2,0 mol L^{-1} os três compostos estudados apresentam comportamento similar, indicando, sob esta condição, a formação de um único produto de oxidação, possivelmente o cátion radicalar, cuja estabilização é favorecida pela elevada acidez do meio. Em H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} e tampão HOAc/NaOAc 1/1 mol L^{-1} (pH 4,7), foi observado comportamento distinto da prometazina, frente aos outros dois derivados estudados, evidenciado pelo surgimento de uma segunda banda de absorção com $\lambda_{\text{máx}} = 420$ nm. A combinação de informações voltamétricas e espectroscópicas, junto com o estudo das estruturas de ressonância, leva a crer que a banda observada em $\lambda_{\text{máx}} = 420$ nm, refere-se a forma duplamente oxidada. O meio de trabalho, por não ser suficientemente ácido para a estabilização do cátion radicalar impele a formação de subprodutos de oxidação, entre os quais figuram tanto o próprio derivado fenotiazínico regenerado quanto a formação de um dicátion^[157], que por ser extremamente instável, é rapidamente hidrolisado e convertido em sulfóxido. Acredita-se que a prometazina, por apresentar cadeia lateral menor que a dos outros dois derivados analisados, é capaz de estabilizar a forma duplamente oxidada, através da interação eletrônica entre o grupo amina da cadeia lateral (R) e o anel fenotiazínico.

Considerando, como corretas, as conjecturas apresentadas, pode-se afirmar que, embora o meio de trabalho escolhido possa exercer significativa influência no mecanismo de oxidação, a estrutura da cadeia lateral é, para os compostos estudados, fator preponderante na formação dos produtos de oxidação.

CAPÍTULO 7 - APLICAÇÕES ANALÍTICAS

Considerados os parâmetros que apresentam repercussão direta nos resultados experimentais, voltou-se à atenção à investigação sobre as potenciais aplicações analíticas da célula espectroeletroquímica.

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ESPECTROELETROANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE DERIVADOS FENOTIAZÍNICOS EM MEDICAMENTOS

Como visto na revisão bibliográfica, embora haja um grande número de métodos propostos para a determinação de derivados fenotiazínicos poucos são completamente satisfatórios. Os métodos espectrofotométricos propostos, por dependerem de instrumentação relativamente simples e serem de fácil implementação, são sem dúvida os mais empregados. Todavia, a necessidade de altas concentrações de ácido e de reagentes oxidantes, requeridas por esses métodos, tem impelido a procura por metodologias alternativas, que resultem em menor impacto ambiental e que possam ter sua aplicação diretamente estendida à quantificação destes compostos em uma grande variedade de matrizes, sem a necessidade de laboriosas etapas prévias de extração.

Diante destas circunstâncias, procurou-se desenvolver um novo método, baseado na oxidação eletroquímica do derivado fenotiazínico de interesse e no monitoramento do produto de oxidação formado. Para o desenvolvimento do método espectroeletroanalítico, duas substâncias foram escolhidas, a prometazina e a clorpromazina, por serem amplamente empregadas tanto em formulações farmacêuticas simples como em associação a outros compostos.

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ESPECTROELETROANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE PROMETAZINA

A prometazina é um derivado fenotiazínico extensivamente usado como anti-histamínico no alívio de reações sintomáticas de hipersensibilidade ou ainda para potencializar os efeitos analgésicos, anestésicos e sedativos de outras drogas. Em formulações comerciais mais simples, a prometazina é, geralmente, administrada sob a forma de tabletes revestidos, creme de uso tópico, ou solução injetável, neste último caso, restrita a uso hospitalar. Como outros derivados, a prometazina sofre oxidação química em meio fortemente ácido, todavia, esta reação depende da acidez da solução, da temperatura, da concentração, do tipo de oxidante utilizado e seu respectivo potencial redox^[134]. A fórmula estrutural da prometazina pode ser observada na Figura 51.

Figura 51. Fórmula estrutural da prometazina.

Na tentativa de se desenvolver um método espectroeletroanalítico, em fluxo, para a determinação da prometazina em medicamentos, voltou-se a atenção, primeiramente, à escolha de um meio de trabalho mais adequado do que o proposto pela literatura, que utiliza concentrações entre 5 e 7 mol L⁻¹ de H₂SO₄ ou H₃PO₄^[163,164].

Inicialmente optou-se por trabalhar em solução tampão CH₃COOH/CH₃COONa (1/1 mol L⁻¹ - pH 4,7). O comportamento espectroeletroquímico da prometazina, em fluxo contínuo, examinado no intervalo de 320 nm a 600 nm, pode ser observado na Figura 52, sendo possível distinguir dois produtos de oxidação um com $\lambda_{\text{máx}} = 422$ nm e outro com $\lambda_{\text{máx}} =$

514 nm. O voltamograma sobreposto aos voltabsorciogramas hidrodinâmicos nos dois comprimentos de onda, é apresentado na Figura 53.

Figura 52. Representação tridimensional da mudança espectral durante a eletro-oxidação de uma solução $1,3 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de prometazina em tampão $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$ (1/1 mol L^{-1} - pH 4,7). Fluxo contínuo: $1,2 \text{ mL min}^{-1}$. Incrementos não constantes de potencial.

Figura 53. Voltamograma e voltabsorciogramas hidrodinâmicos. Solução $1,3 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de prometazina em $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$ (1/1 mol L^{-1} - pH 4,7). Fluxo contínuo: $1,2 \text{ mL min}^{-1}$.

Por meio do voltamograma e voltabsorciogramas hidrodinâmicos da Figura 53, foi possível calcular o potencial de meia onda, $E_{1/2}$, para as três curvas: 0,638 V vs. Ag/AgCl para as medidas de corrente; 0,627 V vs. Ag/AgCl para a banda com máximo de absorção em 422 nm e 0,654 V vs. Ag/AgCl para a banda com máximo de absorção em 514 nm. O valor de $E_{1/2}$ obtido à partir da curva de corrente, corresponde, pois à sobreposição de dois processos (não resolvidos no voltamograma), resultando na média dos outros dois $E_{1/2}$.

A formação de subprodutos de oxidação já havia sido evidenciada em experimentos cronoamperométricos, em condição estacionária, realizados durante o estudo comparativo de alguns derivados fenotiazínicos. Todavia, tendo em vista a investigação da potencialidade do sistema em aplicações espectroeletroanalíticas, examinou-se operação, no modo FIA, para sucessivas injeções de 300 μL de solução de *Fenergan* contendo $1,56 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de prometazina em solução tampão $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$ (1/1 mol L^{-1} - pH 4,7). Os resultados, apresentados na Figura 54, revelam desvio padrão elevado, de 5,2% para as medidas de corrente e 4,9% para as respectivas medidas de absorbância, se bem que ainda aceitável.

Figura 54. Corrente e absorbância vs. tempo, modo FIA. Solução de *Fenergan* contendo $1,56 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de prometazina em $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$ (1/1 mol L^{-1} - pH 4,7). Vazão: $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Alça de Amostragem: 300 μL . Corrente média: 0,288 mA. Absorbância média em 422 nm: 0,340. Absorbância média em 514 nm: 0,108.

Durante a realização de experimentos similares, para avaliação da repetibilidade, observou-se a formação de bolhas na superfície dos eletrodos de trabalho, que originavam quedas nos valores de corrente e perturbações nas medidas de absorbância. Ante as diversas complicações constatadas, optou-se por trabalhar em meio mais ácido, H_2SO_4 ($2,0 \text{ mol L}^{-1}$), sem contudo chegar aos inconvenientes 10 mol L^{-1} propostos na literatura para métodos espectrofotométricos com oxidação química^[157,164].

O comportamento espectroeletroquímico da prometazina foi examinado, em fluxo contínuo, em H_2SO_4 ($2,0 \text{ mol L}^{-1}$), no intervalo de 320 nm a 600 nm. Como se observa na Figura 55, um único produto de oxidação com $\lambda_{\text{máx}} = 514 \text{ nm}$ é formado. O voltamograma e o voltabsorciograma hidrodinâmicos, sob esta condição, podem ser vistos na Figura 56, onde o valor de corrente foi dividido por 100 para melhor ajuste de escala.

Figura 55. Representação tridimensional da mudança espectral durante a eletro-oxidação de uma solução $1,88 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de prometazina em H_2SO_4 ($2,0 \text{ mol L}^{-1}$). Fluxo contínuo: $1,0 \text{ mL min}^{-1}$.

Figura 56. Voltamograma e voltabsorciograma hidrodinâmicos. Solução $1,88 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de prometazina em H_2SO_4 ($2,0 \text{ mol L}^{-1}$). Fluxo contínuo: $1,0 \text{ mL min}^{-1}$.

Os valores de $E_{1/2}$ calculados, a partir da Figura 56, para as medidas de corrente e absorbância foram $0,654 \text{ V}$ e $0,656 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl, respectivamente. Estes resultados encontram-se em concordância como valor de $E_{1/2}$ obtido na Figura 53, $0,654 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl em solução tampão $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$ ($1/1 \text{ mol L}^{-1}$ - pH 4,7), para a banda com máximo de absorção em 514 nm.

Embora a utilização de solução de H_2SO_4 $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ proporcionasse um único produto de oxidação, aspirava-se trabalhar em meio menos crítico. Passou-se a examinar a operação, no modo FIA, para injeções de $300 \mu\text{L}$ de solução de *Fenergan*, contendo $1,56 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de prometazina, em solução suporte de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Em um total de 13 injeções, Figura 57, foi observado desvio padrão relativo para as medidas de corrente e de absorbância de apenas 1,3% e 1,1%, respectivamente. Estes resultados foram promissores, ao menos quanto à estabilidade das medidas e repetibilidade dos picos, justificando sua escolha como meio de trabalho mais apropriado.

Figura 57. Corrente e absorvância vs. tempo, modo FIA. Solução de *Fenergan* contendo $2,26 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de prometazina em H_2SO_4 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$). Vazão: $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Alça de Amostragem: $300 \mu\text{L}$. Corrente média: $66,5 \mu\text{A}$. Absorvância média em 514 nm : $0,360$.

Definido o meio de trabalho, voltou-se a atenção para a determinação das melhores condições de trabalho, tais como: potencial aplicado, vazão, volume injetado e concentração do analito. Estes estudos foram executados alterando uma variável de cada vez, mantendo constante todas as outras.

Os voltamogramas e voltabsorciogramas hidrodinâmicos em H_2SO_4 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) permitiram selecionar o melhor potencial de trabalho. Representação tri-dimensional dos espectros registrados durante a eletro-oxidação de uma solução $6,4 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de prometazina é mostrada na Figura 58.

Figura 58. Representação tri-dimensional da mudança espectral da prometazina durante eletro-oxidação. Fluxo contínuo: $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Solução $6,4 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de prometazina em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$. Incrementos não constantes de potencial.

Duas bandas de absorção, com máximos em 420 e 514 nm, podem ser observadas na Figura 58. A banda em $\lambda = 514 \text{ nm}$ refere-se a formação do cátion radicalar durante a primeira etapa de oxidação da prometazina^[134,183]. A banda em $\lambda = 420 \text{ nm}$, embora não seja relatada na literatura, ao menos nos artigos que tratam sobre o desenvolvimento de métodos para a determinação de derivados fenotiazínicos, onde a maioria dos espectros foi registrada em meio fortemente ácido, possivelmente se refere a formação do dicátion. Mesmo em presença desta banda, indicando a formação de subprodutos de oxidação, preferiu-se trabalhar em meio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ao invés de $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 , por ser este mais seguro para o operador e menos corrosivo para a instrumentação.

O voltamograma e os voltabsorciogramas hidrodinâmicos registrados em 420 nm e 514 nm, sobrepostos na Figura 59, mostram claramente que a formação do cátion radicalar vermelho, que absorve em 514 nm, neste meio de trabalho ($\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$), precede a geração da espécie amarela, em 420 nm, em aproximadamente 0,1 Volt.

Figura 59. Voltamograma e voltabsorciograma hidrodinâmicos. Solução $6,4 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de prometazina em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$. Fluxo contínuo: $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Incrementos não constantes de potencial.

Exame do voltamograma e voltabsorciogramas hidrodinâmicos apresentados na Figura 59 revela que embora potenciais mais elevados ($> 0,900 \text{ V vs. Ag/AgCl}$) favoreçam o sinal amperométrico o mesmo não ocorre para as medidas ópticas. Isto se deve ao meio de trabalho escolhido ($\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$) que por não ser suficientemente ácido para permitir a estabilização do cátion radicalar colorido leva à formação direta do sulfóxido. Este fato já foi apontado na literatura, onde o valor do potencial de oxidação direta da prometazina a sulfóxido é reportado como sendo de $0,88 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ em $\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ [134,225]. Optou-se por trabalhar em $0,800 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, por se acreditar que este potencial representa o melhor compromisso entre as medidas amperométricas e de absorbância.

Para caracterização do sistema e otimização de suas condições operacionais, foram investigadas as influências da vazão e da alça de amostragem. O efeito da vazão, nas medidas de corrente e absorbância, para injeções de $300 \text{ } \mu\text{L}$ de solução $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de prometazina em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 a $0,800 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, pode ser observado na Figura 60.

Figura 60. Efeito da vazão. Medidas de corrente e absorvância vs. tempo. Solução de prometazina: $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Potencial aplicado: $0,800 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl . Alça de amostragem: $300 \mu\text{L}$. Absorvância medida em 514 nm .

A partir dos resultados da Figura 60, construiu-se a Figura 61, onde os valores de corrente e de absorvância são representada em função da vazão. Observa-se que os picos de corrente crescem com a vazão, mas há significativa queda nos valores de absorvância correspondentes. Isto revela que vazões mais elevadas realçam o sinal de corrente devido ao aumento da convecção no interior da célula e conseqüente aporte de material à superfície do eletrodo. Todavia, por ser menor o tempo de residência do material eletroativo em seu interior, a eficiência global da célula torna-se menor e este fenômeno é verificado pela perda de sensibilidade óptica.

Figura 61. Corrente e absorbância vs. vazão. Solução de prometazina: $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Potencial aplicado: $0,800 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl . Alça de amostragem: $300 \mu\text{L}$. Absorbância medida em 514 nm .

O tempo de lavagem relativamente elevado da célula impõe uma frequência de amostragem de 45 determinações por hora, à vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Ao trabalhar com concentrações mais elevadas de analito, pode-se, naturalmente, aumentar a vazão – e a frequência – em detrimento da sensibilidade óptica.

O efeito do volume injetado foi avaliado numa faixa entre 50 e $500 \mu\text{L}$, para uma solução de prometazina $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e potencial de $0,800 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl , como se observa na Figura 62.

Figura 62. Efeito do volume injetado. Medidas de corrente e absorvância vs. tempo. Solução de prometazina: $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Potencial aplicado: $0,800 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl . Alça de amostragem: $50\text{-}500 \mu\text{L}$. Vazão: $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Absorvância medida em 514 nm .

A Figura 63 revela que os valores de corrente e absorvância aumentam com o volume injetado, como esperado. Assim, quando necessário, pode-se incrementar a sensibilidade injetando volumes mais altos, ou privilegiar a frequência analítica, fazendo injeções de volumes menores. Todavia, a escolha da alça de amostragem de $300 \mu\text{L}$ representa um compromisso entre a frequência e a sensibilidade analítica. Aproveitou-se a Figura 63, para determinar o volume-morto do injetor, ou seja, o volume remanescente quando a alça de amostragem tem volume nulo. Encontrou-se, aproximadamente $50 \mu\text{L}$, pela intersecção da reta com o eixo x, nas medidas de corrente.

Figura 63. Corrente e absorbância vs. volume injetado. Solução de prometazina: $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Potencial aplicado: $0,800 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl . Alça de amostragem: $50\text{-}500 \mu\text{L}$. Vazão: $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Absorbância medida em 514 nm .

Na Tabela 4, encontram-se resumidos os parâmetros estudados e selecionados para análise por injeção em fluxo. Com estes valores, voltou-se a atenção para a construção de curvas analíticas, procurando trabalhar em faixas de concentração que apresentassem comportamento linear. A influência da concentração nas medidas de corrente e absorbância é apresentada na Figura 64.

Tabela 4. Parâmetros avaliados e condições de trabalho selecionadas.

Parâmetros avaliados no modo FIA		
Parâmetro	Faixa estudada	Valor selecionado
Potencial (V) vs. Ag/AgCl	$0,200 - 1,000$	$0,800$
Vazão (mL min^{-1})	$0,75 - 4,00$	$2,00$
Alça de amostragem (μL)	$50 - 500$	300
Comprimento de onda (nm)	$190 - 820$	514

Figura 64. Efeito da concentração. Medidas de corrente e absorbância vs. tempo. Soluções de prometazina: $1,0 \cdot 10^{-6} - 5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Potencial aplicado: $0,800 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl . Alça de amostragem: $300 \mu\text{L}$. Vazão: $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Absorbância medida em 514 nm . Concentrações iguais a da Figura 65.

Com os resultados obtidos na Figura 64, foi possível construir as curvas analíticas para as respostas eletroquímicas e espectrofotométricas. Os resultados podem ser vistos na Figura 65, onde cada ponto no gráfico se refere à média dos valores obtidos no modo FIA. Observa-se o excelente ajuste da regressão linear obtido para os dados eletroquímicos com coeficiente de correlação igual a $0,999$ e resposta não-linear para as medidas espectrofotométricas, ao menos em coordenadas lineares.

Figura 65. Curvas analíticas. Corrente e absorvância vs. concentração. Soluções de prometazina: $1,0 \cdot 10^{-6} - 5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Potencial aplicado: $0,800 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl . Alça de amostragem: $300 \mu\text{L}$. Vazão: $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Absorvância medida em 514 nm .

Na Figura 66, a curva analítica para as medidas espectrofotométricas é apresentada em escala logarítmica, demonstrando a ampla faixa de concentração compreendida.

Figura 66. Curva analítica em escala logarítmica. Absorvância vs. concentração. Soluções de prometazina: $1,0 \cdot 10^{-6} - 5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Potencial aplicado: $0,800 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl . Alça de amostragem: $300 \mu\text{L}$. Vazão: $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Absorvância medida em 514 nm .

Embora o gráfico logarítmico possa ser usado na determinação direta de amostras desconhecidas, conseguiu-se descrever mais precisamente regiões menos amplas de concentração com auxílio da equação abaixo, escolhida empiricamente (disponível como equação logística no *software* Microcal Origin) e recorrendo à regressão não linear multiparamétrica, onde K_1 , K_2 , K_3 e p são parâmetros empíricos:

$$\text{Abs} = \frac{K_1 - K_2}{1 + (\text{Conc}/K_3)^p} + K_2$$

Na literatura, respostas lineares são obtidas em meio fortemente ácido e usando poderosos oxidantes químicos^[201]. Neste caso, o desvio da linearidade pode ser atribuído ao meio de trabalho escolhido (H_2SO_4 0,1 mol L^{-1}) que por não favorecer a estabilização do cátion radicalar colorido causa seu desproporcionamento, que conduz à regeneração da prometazina e a formação do dicátion que absorve em $\lambda = 420$ nm e, eventualmente, hidrolisa formando o sulfóxido. A reação de desproporcionamento pode ser observada na Figura 67^[157]. Este é um dos efeitos que explicam os desvios da Lei de Beer, descritos em livros texto^[226].

Figura 67. Reação de desproporcionamento de derivados fenotiazínicos.

Embora não seja usual se empregar a metodologia da adição de padrão para resposta não linear, este é um procedimento aceito e regulamentado pela ANVISA^[227] para a validação de métodos analíticos, que prevê o uso de tratamento matemático apropriado para os casos em que não há relação linear direta entre os resultados obtidos e a concentração de analito na amostra.

Os limites de detecção foram determinados em $1,3 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e $3,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ para as medidas espectrofotométricas e eletroquímicas, respectivamente. Os limites de quantificação foram determinados em $1,1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e $2,2 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ para as medidas eletroquímicas e espectrofotométricas, respectivamente. Os critérios adotados para estimar os limites de detecção e quantificação foram, respectivamente, os de sinais três e dez vezes maiores que o ruído da linha base. Estes limites são menores que os reportados na literatura para métodos espectrofotométricos^[153,166].

DETERMINAÇÃO DE PROMETAZINA NO MEDICAMENTO *FENERGAN*

O método proposto foi aplicado à determinação da prometazina no *Fenergan* (Rhodia-Farma). Curvas de calibração convencionais, no modo FIA, em faixa restrita de concentração, foram utilizadas para a quantificação da prometazina. As medidas de absorbância da solução de *Fenergan*, indicada na Figura 68 pela letra A, foram repetidas com o eletrodo desligado, letra B. Este procedimento foi adotado devido à presença de corante no comprimido. O valor de absorbância assinalado pela letra B é subtraído das medidas espectrofotométricas realizadas com o eletrodo ligado (letra A).

Figura 68. Curvas analíticas seguidas de amostra de *Fenergan* (letra A). Corrente e absorbância vs. tempo. Soluções de prometazina: $2,0 \cdot 10^{-4} - 9,2 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Potencial aplicado: $0,800 \text{ V vs. Ag/AgCl}$. Alça de amostragem: $300 \mu\text{L}$. Vazão: $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Absorbância medida em 514 nm . Medidas de absorbância da amostra com eletrodo (A) ligado e (B) desligado.

Observa-se, na Figura 69, resposta linear para as medidas de corrente e o bom ajuste da curva, pela equação logística, para as medidas espectrofotométricas.

Figura 69. Curvas analíticas. Corrente e absorvância vs. concentração. Soluções de prometazina: $2,0 \cdot 10^{-4} - 9,2 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Potencial aplicado: $0,800 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl . Alça de amostragem: $300 \mu\text{L}$. Vazão: $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Absorvância medida em 514 nm .

O método da adição de padrão também foi empregado para quantificação da prometazina no *Fenergan*. Os picos típicos, obtidos no modo FIA, são mostrados na Figura 70, onde é também possível distinguir as medidas de absorvância obtidas com o eletrodo de trabalho desconectado (letra B).

Figura 70. Determinação da concentração de prometazina pelo método da adição de padrão. Corrente e absorvância vs. tempo. Soluções de prometazina adicionadas: $4,0 \cdot 10^{-4} - 1,9 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Potencial aplicado: $0,800 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl . Alça de amostragem: $300 \mu\text{L}$. Vazão: $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Absorvância medida em 514 nm .

Na Figura 71 pode-se observar, novamente, a resposta linear para as medidas de corrente e o bom ajuste da curva, utilizando a equação logística, para as medidas espectrofotométricas.

Figura 71. Adição de padrão. Corrente e absorbância vs. concentração adicionada. Soluções de prometazina adicionadas: $4,0 \cdot 10^{-4}$ – $1,9 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Potencial aplicado: $0,800 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl . Alça de amostragem: $300 \mu\text{L}$. Vazão: $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Absorbância medida em 514 nm .

Os resultados obtidos tanto pela construção de curvas de calibração quanto pelo método das adições de padrões foram comparados com o método oficial, que envolve titulação potenciométrica em meio não aquoso.

METODOLOGIA OFICIAL

O método oficial sugerido pela British Pharmacopoeia^[149] e adotado para comparação com a metodologia proposta, baseia-se em titulação potenciométrica utilizando eletrodo de vidro. Uma massa definida de prometazina é dissolvida em uma mistura de ácido perclórico (HClO_4 - $0,01 \text{ mol L}^{-1}$) e etanol (96%) e então titulada com solução de hidróxido de sódio ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), sendo o ponto final determinado potenciometricamente. O volume de hidróxido adicionado entre as duas inflexões da curva deve ser estimado e utilizado para calcular a massa equivalente de prometazina. A primeira inflexão se refere à titulação do ácido perclórico, enquanto a segunda, à desprotonação do grupo amina do derivado fenotiazínico. Este método foi empregado na quantificação da prometazina no *Fenergan* (Rhodia-Farma).

Com o auxílio do *software* Curtipot foi possível o alisamento das curvas de titulação potenciométrica e a obtenção de derivadas, primeiras e segundas, perfeitamente ajustáveis aos dados experimentais, como se observa na Figura 72.

Segundo a British Pharmacopoeia, o volume de NaOH gasto na titulação está relacionado à massa de prometazina na solução da seguinte maneira:

Ou seja, cada mL de NaOH consumido na titulação equivale a 0,03209 g de prometazina.

Figura 72. Curvas de titulação potenciométrica. Titulação de uma solução de *Fenegan* com solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ analisada com o auxílio do Curtipot.

COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS

Os resultados obtidos pelo método proposto e oficial para a determinação de prometazina no *Fenergan* foram comparados e são apresentados na Tabela 5. O valor nominal fornecido pelo fabricante (Rhodia-Farma) é de 25 mg/tablete.

Tabela 5. Determinação de prometazina no *Fenergan* tabletes, pelos métodos proposto e o oficial, sugerido pela British Pharmacopoeia^[149]. Valor nominal: 25 mg/tablete.

Método	Procedimento	Deteção	Resultado (mg/tablete)
Proposto	Curva analítica	Amperométrica	25,1 ± 2,5
		Espectrofotométrica	25,5 ± 0,8
	Adição de Padrão	Amperométrica	25,2 ± 0,9
		Espectrofotométrica	24,3 ± 1,8
Oficial	Titulação	Potenciométrica	25,5 ± 0,8

No caso do método proposto o valor encontrado refere-se a uma média de cinco determinações, enquanto para o método oficial foram executadas quatro replicatas. Aplicação do teste F, para comparação entre as precisões dos resultados obtidos, revela que no nível de probabilidade 10%, exceto para a medida de corrente obtida pela construção da curva analítica, não há diferença significativa entre as precisões dos dois métodos, o que sugere que o método proposto pode ser empregado como alternativa ou em substituição ao oficial.

CONCLUSÕES PARCIAIS

Os resultados obtidos na determinação da prometazina no *Fenergan* (Rhodia-Farma), quantificados por meio de curvas analíticas ou com o método das adições de padrão, foram satisfatórios e suficientemente confiáveis para que os métodos propostos possam ser empregados como uma metodologia alternativa aos métodos oficiais recomendados pela British Pharmacopoeia^[149] e pela United States Pharmacopoeia^[150]. Adicionalmente, o tempo gasto na quantificação da prometazina pelo método proposto, mesmo levando em conta a construção da curva analítica e a realização de medidas em triplicata, é menor que o tempo necessário para efetuar apenas uma única titulação potenciométrica, com a vantagem de se não se correr o risco de contaminação, como a absorção de CO₂ no hidróxido titulante.

Para a aplicação proposta, a determinação de prometazina no *Fenergan*, há redundância de informações, pois tanto as medidas de corrente como as de absorbância permitem efetuar a determinação. Todavia a combinação de informações pode contribuir para assegurar a seletividade, discriminando o sinal do analito de potenciais interferentes, fator de grande importância quando se trabalha com amostras mais complexas que a em pauta.

DETERMINAÇÃO DE PROMETAZINA NO LISADOR

Em continuidade às pesquisas empregou-se como exemplo de matriz complexa o medicamento *Lisador* (Farmasa) que, além da prometazina, apresenta como princípios ativos dipirona e adifenina, ambos eletroativos (Figura 73). Neste caso, como não há diferença suficiente na resposta eletroquímica, as diferenças espectrais são decisivas para o estabelecimento de métodos analíticos.

Figura 73. Fórmula estrutural da dipirona e adifenina

INVESTIGAÇÃO ESPECTROELETROQUÍMICA SOBRE AS POSSÍVEIS INTERAÇÕES ENTRE OS COMPOSTOS PRESENTES NO *LISADOR*

Em etapa anterior à aplicação do método procurou-se avaliar as possíveis implicações causadas pela presença de outros compostos no medicamento. Como primeiro ensaio, investigou-se, por meio de voltamogramas cíclicos, o comportamento eletroquímico da dipirona, da prometazina e do *Lisador*, como se observa na Figura 74.

Figura 74. Voltamogramas cíclicos. (■) Solução de prometazina $1,40 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. (●) Solução de *Lisador* contendo $3,12 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de prometazina. (▲) Solução de dipirona $5,1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Todas em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Velocidade de varredura: 3 mV s^{-1} .

A Figura 74 revela que a onda voltamétrica da dipirona se sobrepõe a onda da prometazina. Cabe lembrar que o medicamento *Lisador*, sob apresentação na forma comprimido e injetável, apresenta concentração de dipirona cerca de 100 e 30 vezes maior que a de prometazina, respectivamente. A severa interferência causada nas medidas de corrente pela presença de dipirona fez com que se procurasse avaliar as diferenças espectrais destes dois compostos. Assim, foi realizada a investigação espectroeletroquímica de uma solução de dipirona em H_2SO_4 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), como se verifica na Figura 75.

Figura 75. Representação tridimensional da mudança dos espectros de absorção durante a eletro-oxidação de uma solução $6,85 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de dipirona em H_2SO_4 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$). Fluxo contínuo: $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Incrementos não constantes de potencial. Medidas abaixo de 300 nm prejudicadas pelo uso de cubeta acrílica.

Nenhuma mudança espectral foi percebida durante a eletro-oxidação da dipirona. O voltamograma hidrodinâmico correspondente à Figura 75 encontra-se registrado na Figura 76, onde é possível observar que em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ a dipirona é eletroativa a partir de $0,400 \text{ V vs. Ag/AgCl}$

Figura 76. Voltamograma hidrodinâmico de uma solução $6,85 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de dipirona em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Fluxo contínuo: $2,0 \text{ mL min}^{-1}$.

Outra questão avaliada refere-se ao comportamento da dipirona e da prometazina quando associadas. Foram analisadas soluções com razões molares de dipirona e prometazina iguais a 1:1 e 3:1. Na Figura 77, observa-se a variação espectral durante a eletro-oxidação de uma solução de dipirona e prometazina na proporção 1:1. No detalhe, tem-se a ampliação da região espectral de interesse, na qual é possível observar o produto de eletro-oxidação da prometazina.

Figura 77. Representação tridimensional da variação espectral durante a eletro-oxidação de uma solução $3,42 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de dipirona e $3,24 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de prometazina em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Fluxo contínuo: 2 mL min^{-1} . Incrementos não constantes de potencial iguais ao da Figura 78.

Para comparação entre as soluções analisadas, foram registrados, na Figura 78, os voltamogramas hidrodinâmicos para soluções de dipirona, prometazina e da combinação dipirona-prometazina em duas diferentes proporções, 1:1 e 3:1.

Figura 78. Voltamogramas hidrodinâmicos. (■) Solução $6,85 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de dipirona; (●) Solução $6,40 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de prometazina; (▲) solução $3,42 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de dipirona e $3,24 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de prometazina e (▼) solução $5,31 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de dipirona e $1,60 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de prometazina. Todas em H_2SO_4 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e fluxo contínuo de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$.

Análise da Figura 78 revela que o potencial para a eletro-oxidação da dipirona é menor que da prometazina. Desta forma, para aplicação do método espectroeletroquímico à determinação de prometazina no *Lisador* deve-se levar em conta apenas as medidas de absorvância, vez que as medidas de corrente não correspondem unicamente ao processo de eletro-oxidação da prometazina, mas a uma somatória de processos.

A princípio pensou-se ser razoável a quantificação simultânea de dipirona e prometazina empregando medidas de absorvância e de corrente. Entretanto, um exame em relação à estrutura das moléculas presentes no medicamento, Figura 79, revela que isso não é possível.

Figura 79. Estrutura da dipirona e da prometazina e ataque com formação de aduto.

A prometazina é uma amina terciária e, portanto, apresenta um centro nucleofílico, já a dipirona apresenta um centro eletrofílico. Se, ao invés de uma amina terciária, tivéssemos uma amina secundária haveria a formação de uma imida. Todavia, aminas terciárias são menos reativas, e embora não ocorra a reação, ainda assim há o ataque com formação de aduto^[228,229]. Desta maneira, é possível quantificar prometazina em presença de dipirona, mas não o inverso, pois a presença de prometazina leva a “erro” na determinação de dipirona devido à inativação da porção eletroativa da molécula. O mesmo não ocorre com a prometazina vez que a eletro-oxidação se dá sobre o átomo de nitrogênio do anel heterocíclico e não sobre o da amina terciária. Todavia, no medicamento, a prometazina encontra-se somente sob a forma de aduto.

O comportamento eletroquímico da adifenina foi relegado devido à sua baixa concentração no medicamento.

DETERMINAÇÃO DE PROMETAZINA NO *LISADOR*

Em todos os experimentos, as respostas eletroquímicas e espectroscópicas foram monitoradas simultaneamente. O conhecimento prévio sobre algumas condições de operação do sistema foi aplicado à determinação de prometazina no *Lisador*.

A metodologia adotada foi apenas a das adições de padrão, pois além da interferência das medidas de corrente causada pela presença de outros compostos eletroativos, a presença de propilenoglicol como veículo no medicamento injetável e açúcar refinado no medicamento em comprimidos tem como consequência a interferência nas medidas de absorbância, devido a diferença entre o índice de refração da amostra e da solução carregadora, fenômeno este, conhecido por efeito Schlieren^[105].

Duas abordagens podem ser utilizadas na solução deste problema, a adição de propilenoglicol ou açúcar à solução carregadora (H_2SO_4 0,1 mol L⁻¹), ou a realização de medidas diferenciais de absorbância. Optou-se pela segunda alternativa, com a seleção de dois comprimentos de onda, o primeiro em $\lambda = 514$ nm correspondente ao sinal do produto da eletro-oxidação da prometazina e o segundo em $\lambda = 780$ nm, onde nenhum sinal é observado, exceto o referente ao efeito Schlieren.

DETERMINAÇÃO DE PROMETAZINA NO *LISADOR* COMPRIMIDOS

Empregando o método da adição de padrão passou-se à determinação da prometazina no *Lisador* comprimidos. Os picos, obtidos no modo FIA, em dois comprimentos de onda, 524 e 780 nm, monitorados simultaneamente em função do tempo, são mostrados na Figura 80.

Figura 80. Adição de solução padrão de prometazina no *Lisador* comprimidos, no modo FIA. Alça de amostragem: 300 μL . Vazão: 2,0 mL min^{-1} . Potencial aplicado: 0,800 V vs. Ag/AgCl.

Os picos positivos, resultantes da diferença entre a absorbância monitorada em $\lambda=514\text{ nm}$ e $\lambda=780\text{ nm}$, foram usados na construção da curva da Figura 81, que revela o bom ajuste da regressão não-linear multiparamétrica utilizando a equação logística.

Figura 81. Curva referente a adição de padrão de prometazina no *Lisador* comprimidos. Alça de amostragem: 300 μL . Vazão: 2,0 mL min^{-1} . Potencial aplicado: 0,800 V vs. Ag/AgCl. No detalhe, a diferença entre a absorbância monitorada em 514 nm e 780 nm.

DETERMINAÇÃO DE PROMETAZINA NO *LISADOR* INJETÁVEL

Os picos, obtidos no modo FIA, para as medidas de absorbância em dois diferentes comprimento onda, são mostrados na Figura 82. Na Figura 83, observa-se a curva construída à partir da diferença dos picos positivos da Figura 82, ajustada por regressão não-linear multiparamétrica.

Figura 82. Adição de padrão, em FIA, de prometazina no *Lisador* injetável. Alça de amostragem: 300 μL . Vazão: 2,0 mL min^{-1} . Potencial aplicado: 0,800 V vs. Ag/AgCl.

Figura 83. Curva referente a adição de padrão de prometazina no *Lisador* injetável. Alça de amostragem: 300 μL . Vazão: 2,0 mL min^{-1} . Potencial aplicado: 0,800 V vs. Ag/AgCl. No detalhe, a diferença entre a absorbância monitorada em 514 nm e 780 nm.

COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS

Os resultados obtidos através do método espectroeletroquímico desenvolvido não puderam ser comparados com o oficial, vez que a presença de dipirona no medicamento causa interferência tanto nas medidas espectrofotométricas na região do ultravioleta quanto na titulação potenciométrica em meio não aquoso. Embora versão mais recente da USP^[150] proponha a determinação de prometazina por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), esta metodologia é sugerida apenas para fármacos de composição mais simples, havendo a necessidade de todo um estudo para sua aplicação ao *Lisador*.

O laboratório de controle de qualidade do fabricante do *Lisador* foi contatado a fim de se estabelecer um intercâmbio e validar os resultados obtidos, por comparação dos valores encontrados com os valores fornecidos pelo fabricante.

Os resultados obtidos pelo método proposto para os lotes 0587 (comprimido) e 8410 (injetável) foram confrontados com o valores apresentados pelo fabricante, que emprega espectrofotometria de absorção no ultravioleta (297 nm) após sucessivas e laboriosas etapas de extração com solvente, e podem ser observados na Tabela 6.

O valores nominais de bula (Farmasa) são de 5mg/comprimido e 25 mg/ampola de 2 mL, todavia para garantir que a concentração do produto esteja dentro da especificação, ou seja, numa faixa de concentração de 90 a 110% até o fim do prazo de validade, um excesso de cerca de 10 % é adicionado.

Tabela 6. Determinação de prometazina no *Lisador* injetável, pelo método proposto e o aplicado pelo fabricante. Valor nominal: 5 mg/comprimido e 25 mg/ampola de 2mL. * Valor médio de triplicata. ** Método usado pelo fabricante (Farmasa), extração e absorção no ultravioleta.

Metodologia empregada			
Medicamento	Deteção	Adição de padrão (mg/ampola)	Método de referência
<i>Lisador</i> (5 mg/comprimido)	Espectrofotométrica	5,4 ± 0,3*	5,5**
<i>Lisador</i> (25 mg/ampola de 2mL)	Espectrofotométrica	25,8 ± 1,3*	27,4**

No caso do método proposto o valor encontrado refere-se a uma média de três determinações. Observa-se que não há diferença significativa entre os resultados, vez que o valor fornecido pelo fabricante é obtido antes da liberação do lote para o mercado, enquanto o valor encontrado pelo presente método está sujeito ao tempo de prateleira e as condições de estocagem do produto. Ainda assim, o valor encontrado está em concordância com o valor nominal do produto e dentro do limite especificado.

CONCLUSÕES PARCIAIS

O método espectroeletroquímico desenvolvido é, além de simples, rápido e sensível. Nenhuma etapa de pré-extração é necessária e sua aplicação pode ser diretamente estendida tanto à determinação de prometazina em sua forma pura quanto em formulações farmacêuticas complexas. A seletividade do método permite contornar tanto a interferência causada pela presença de outros compostos eletroativos quanto de excipientes, como propilenoglicol e açúcar.

Os resultados obtidos na determinação da prometazina no *Lisador* (Farmasa), quantificados por meio do método da adição de padrão, foram satisfatórios e suficientemente confiáveis para que o método proposto possa ser empregado como uma metodologia alternativa aos métodos oficiais.

Estes resultados foram divulgados mediante publicação de artigo científico^[230].

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ESPECTROELETROANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE CLORPROMAZINA

A clorpromazina, por apresentar propriedades antipsicóticas e neurolépticas, é um derivado fenotiazínico largamente empregado no tratamento de desordens mentais. A clorpromazina é um medicamento de venda controlada e, geralmente, administrada sob a forma de comprimidos, solução injetável, ou ainda em gotas. A estrutura molecular da clorpromazina pode ser observada na Figura 84.

Figura 84. Estrutura molecular da clorpromazina.

Para o desenvolvimento de um método espectroeletroanalítico, em fluxo, para a determinação da clorpromazina em medicamentos procurou-se otimizar as condições de trabalho, investigando a influência de parâmetros tais como: potencial aplicado, vazão, volume injetado e concentração do analito, nas respostas eletroquímicas e espectroscópicas.

Como meio de trabalho, optou-se por utilizar solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 . O comportamento espectroeletroquímico da clorpromazina, neste meio, foi examinado, em fluxo contínuo, no intervalo de 400 nm a 650 nm. Uma única banda de absorção com máximo em 524 nm, referente à formação do cátion radicalar colorido, foi observada^[8,31], como se pode constatar na Figura 85.

Figura 85. Representação tridimensional da variação espectral durante a eletro-oxidação de uma solução $8,59 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de clorpromazina em H_2SO_4 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$). Fluxo contínuo: $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Incrementos não constantes de potencial.

A Figura 86 mostra o voltamograma e voltabsorciograma hidrodinâmicos da clorpromazina, em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Essas curvas permitiram selecionar o valor de $0,800$ Volts vs. Ag/AgCl, como sendo o melhor potencial de trabalho.

Figura 86. Voltamograma e voltabsorciograma hidrodinâmicos. Solução $8,59 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de clorpromazina em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Fluxo contínuo: $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Incrementos não constantes de potencial.

O efeito de parâmetros, tais como: vazão, volume injetado e concentração de analito, foi investigado para caracterização do sistema e otimização de suas condições operacionais. O efeito da vazão, nas medidas de corrente e absorvância, para injeções de 300 μL de solução $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de clorpromazina em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 a $0,800 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl , pode ser observado na Figura 87.

Figura 87. Efeito da vazão. Corrente e absorvância vs. tempo. Solução de clorpromazina: $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Potencial aplicado: $0,800 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl . Alça de amostragem: $300 \mu\text{L}$. Absorvância medida em 524 nm . (A) $1,0 \text{ mL min}^{-1}$, (B) $2,8 \text{ mL min}^{-1}$, (C) $4,0 \text{ mL min}^{-1}$, (D) $5,0 \text{ mL min}^{-1}$, (E) $6,1 \text{ mL min}^{-1}$, (F) $7,2 \text{ mL min}^{-1}$.

As curvas referentes aos resultados apresentados na Figura 87, podem ser vistas na Figura 88, onde os valores de corrente e de absorvância são representados em função da vazão.

Figura 88. Efeito da vazão. Solução de clorpromazina: $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Potencial aplicado: $0,800 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl . Alça de amostragem: $300 \mu\text{L}$. Absorbância medida em 524 nm .

Observa-se, na Figura 88, que os picos de corrente crescem com a vazão, mas há significativa queda nos valores de absorbância correspondentes. Ainda que o aumento da vazão possa realçar o sinal de corrente, devido ao aumento da convecção no interior da célula e conseqüente aporte de material à superfície do eletrodo, por ser menor o tempo de residência do material eletroativo em seu interior, a eficiência global da célula torna-se menor, sendo este fenômeno constatado pela perda de sensibilidade óptica. A vazão de $2,8 \text{ mL min}^{-1}$ foi selecionada por representar o melhor compromisso entre as medidas amperométricas e espectrofotométricas.

O efeito do volume injetado foi avaliado numa faixa que variou entre 100 e $500 \mu\text{L}$. Os picos obtidos para injeções de uma solução $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de clorpromazina em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ a potencial de $0,800 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl e vazão de $2,8 \text{ mL min}^{-1}$, podem ser observados na Figura 89.

Figura 89. Efeito do volume injetado. Corrente e absorbância vs. tempo. Solução $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de clorpromazina em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Potencial aplicado: $0,800 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl . Vazão: $2,8 \text{ mL min}^{-1}$. Alça de amostragem: $50\text{-}500 \mu\text{L}$. Absorbância medida em 524 nm .

A partir dos resultados da Figura 89, construiu-se a Figura 90, onde os valores de corrente e de absorbância são representados em função do volume injetado. Observa-se que os picos de corrente e absorbância crescem com o volume da alça de amostragem.

Figura 90. Efeito do volume injetado. Medidas de corrente e absorbância em função da alça de amostragem. Solução $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de clorpromazina em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Potencial aplicado: $0,800 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl . Vazão: $2,8 \text{ mL min}^{-1}$. Absorbância medida em 524 nm .

A Figura 90 revela que os valores de corrente e absorvância aumentam com o volume injetado, como esperado. Assim, quando necessário, pode-se incrementar a sensibilidade injetando volumes mais altos, ou privilegiar a freqüência analítica, fazendo injeções de volumes menores. Atenção deve ser dada ao fato de que excluindo o erro experimental, as medidas de absorvância deixam de ser função linear do volume injetado a partir de 400 μL , desta forma não há vantagem em incrementar o volume de analito injetado.

A repetibilidade do sistema foi examinada através de sucessivas injeções de 300 μL de uma solução $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de clorpromazina, a 0,800 Volts vs. Ag/AgCl e $2,8 \text{ mL min}^{-1}$, como se observa na Figura 91. Em um total de 20 injeções, observou-se desvio padrão relativo para as medidas de corrente e absorvância de 3,8% e 2,7%, respectivamente. O tempo de lavagem relativamente elevado da célula impõe uma freqüência de amostragem de 52 determinações por hora.

Figura 91. Estudo de repetibilidade. Corrente e Absorvância vs. tempo. Solução de clorpromazina $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Potencial aplicado: 0,800 V vs. Ag/AgCl. Alça de amostragem: 300 μL . Vazão: $2,8 \text{ mL min}^{-1}$. Corrente média: 0,049 mA. DPR: 3,8 %. Absorvância média em 524 nm: 0,159. DPR: 2,7 %.

Os parâmetros selecionados para análise por injeção em fluxo encontram-se resumidos na Tabela 7.

Tabela 7. Parâmetros avaliados e condições de trabalho selecionadas.

Parâmetros avaliados no modo FIA		
Parâmetro	Faixa estudada	Valor selecionado
Potencial (V) vs. Ag/AgCl	0,200 – 1,000	0,800
Vazão (mL min ⁻¹)	1,00 – 7,20	2,80
Alça de amostragem (μL)	100 – 500	300
Comprimento de onda (nm)	190 – 820	524 e 780

A influência da concentração nas medidas de corrente e absorbância é apresentada na Figura 92.

Figura 92. Efeito da concentração. Corrente e absorbância vs. tempo. Soluções de clorpromazina: $2,0 \cdot 10^{-4} - 2,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Potencial aplicado: 0,800 V vs. Ag/AgCl. Alça de amostragem: 300 μL . Vazão: $2,8 \text{ mL min}^{-1}$. Absorbância medida em 524 nm.

As curvas analíticas para as respostas eletroquímicas e ópticas podem ser vistas na Figura 93, onde cada ponto no gráfico se refere à média dos valores obtidos no modo FIA. Verifica-se que há boa linearidade tanto para as medidas corrente quanto para as de absorbância, com coeficientes de correlação iguais a 0,996 e 0,999, respectivamente.

Figura 93. Curvas analíticas. Soluções de clorpromazina com concentrações variando entre $2,0 \cdot 10^{-4}$ e $2,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Potencial aplicado: $0,800 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl . Alça de amostragem: $300 \mu\text{L}$. Vazão: $2,8 \text{ mL min}^{-1}$. Absorbância medida em 524 nm .

Os limites de detecção foram determinados em $7,6 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $4,1 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ para as medidas eletroquímicas e espectrofotométricas, enquanto os limites de quantificação foram determinados em $3,3 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,6 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ para as medidas eletroquímicas e espectrofotométricas, respectivamente. Os critérios adotados para estimar estes valores foram os de sinais três e dez vezes maiores que o ruído da linha base, para os limites de detecção e quantificação, respectivamente. Estes limites são comparáveis aos reportados na literatura para métodos espectrofotométricos^[153, 166].

DETERMINAÇÃO DE CLORPROMAZINA NO *AMPLICTIL*

Após a otimização das condições de operação do sistema, passou-se à determinação da clorpromazina no *Amplictil* (Aventis), sendo empregado o método das adições de padrão tanto para a amostra em comprimidos quanto em gotas. Em todos os experimentos, as respostas eletroquímicas e espectroscópicas foram monitoradas simultaneamente.

Os picos obtidos, para as medidas de corrente e absorvência, no modo FIA, para a adição de padrão no *Amplictil* comprimidos são apresentados na Figura 94.

Figura 94. Adição de padrão de clorpromazina no *Amplictil* comprimido, modo FIA. Medidas de corrente e absorvência vs. tempo. Alça de amostragem: 300 μL . Vazão: 2,8 mL min^{-1} . Potencial aplicado: 0,800 V vs. Ag/AgCl.

Observa-se, na Figura 95, a curva, referente a adição de padrão de clorpromazina no *Amplictil* comprimido, construída à partir do resultados obtidos da Figura 94.

Figura 95. Adição de padrão, em FIA, de clorpromazina no *Amplictil* comprimido. Medidas de corrente e absorbância vs. concentração adicionada. Alça de amostragem: 300 μL . Vazão: 2,8 mL min^{-1} . Potencial aplicado: 0,800 V vs. Ag/AgCl.

MÉTODO OFICIAL

A metodologia oficial proposta pela United States Pharmacopeia^[150] para a determinação de clorpromazina, varia em função da forma de apresentação do medicamento. Para comprimidos, sugere-se a trituração e a pesagem de cerca de 20 comprimidos contendo clorpromazina. Uma massa de aproximadamente 100 mg de clorpromazina deve ser transferida a um frasco volumétrico de 500 mL e, após a adição de 200 mL de água e 5 mL de HCl (0,1 N), agitada por 10 minutos. Terminada a agitação deve-se completar o volume a 500 mL e homogeneizar a solução. A solução é então filtrada, descartando-se os primeiros 50 mL do filtrado, e um volume de 10 mL do filtrado é empregado na determinação direta da clorpromazina. Para calcular a quantidade em mg de clorpromazina no comprimido é dada a seguinte fórmula:

$$C_{\text{clorpromazina no tablete}} = 12,5 C(A_{254} - A_{277})_U / (A_{254} - A_{277})_S$$

Onde C é a concentração, em µg por mL, de uma solução padrão de clorpromazina e a expressão entre parênteses refere-se à diferença de absorbância entre as duas soluções nos comprimentos de onda indicados em subscrito para a solução preparada a partir dos comprimidos (U) e a solução padrão (S).

Este método foi empregado na quantificação da clorpromazina no *Amplictil* comprimidos.

COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS

Os resultados obtidos para a determinação de clorpromazina no *Amplictil* comprimidos, tanto pelo método proposto quanto pelo oficial, foram comparados e apresentados na Tabela 8. O valor nominal fornecido pelo fabricante (Aventis) é de 25 mg/tablete.

Tabela 8. Determinação de clorpromazina no *Amplictil* tabletes, pelo método proposto e o oficial, sugerido pela British Pharmacopoeia. Valor nominal: 25 mg/tablete.

Método	Procedimento	Deteccão	Resultado (mg/tablete)
Proposto	Adição de Padrão	Amperométrica	25,1 ± 0,2
		Espectrofotométrica	25,9 ± 1,3
Oficial	Extração	Espectrofotométrica no UV	25,7 ± 0,6

No caso do método proposto o valor encontrado refere-se a uma média de cinco determinações, enquanto o método oficial foi executado em triplicata. Aplicação do teste F, para comparação entre as precisões dos resultados obtidos, revela que no nível de probabilidade 10% não há diferença significativa entre as precisões dos dois métodos, o que sugere que o método proposto pode ser empregado como alternativa ou em substituição ao oficial. Ademais, a dupla resposta dos métodos propostos permite que os resultados obtidos possam ser comparados entre si.

AMPLICITIL GOTAS

A determinação de clorpromazina no *Amplictil* gotas exige uma abordagem diferente da empregada para o medicamento sob a forma de comprimidos. Além da clorpromazina, que é o princípio ativo, encontra-se presente no medicamento o ácido ácido ascórbico (Figura 96), como anti-oxidante. Ambos os compostos são eletroativos na mesma faixa de potencial e por se tratar de um caso de matriz complexa, onde as diferenças voltamétricas não são suficientes para o estabelecimento de um método analítico, as diferenças espectrais tornam-se decisivas.

Figura 96. Fórmula estrutural do ácido ascórbico.

INVESTIGAÇÃO ESPECTROELETROQUÍMICA SOBRE AS POSSÍVEIS INTERAÇÕES ENTRE OS COMPOSTOS PRESENTES NO *AMPLICITIL* GOTAS.

Procurou-se investigar as possíveis implicações causadas pela presença de ácido ascórbico na determinação da clorpromazina no *Amplictil* gotas. Como primeiro ensaio, avaliou-se comportamento eletroquímico de uma solução de *Amplictil* gotas, por meio da realização de sucessivos voltamogramas cíclicos e monitoramento simultâneo da absorbância, como se pode observar na Figura 97.

Figura 97. Voltamograma e voltabsorciograma cíclicos de uma solução de *Amplictil* gotas contendo $8,6 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de clorpromazina em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Modo estacionário. Velocidade de varredura: 11 mV s^{-1} .

O voltamograma cíclico registrado na Figura 97 revela uma sobreposição de ondas voltamétricas. A primeira, irreversível, pode ser associada a presença do ácido ascórbico, enquanto a segunda, reversível, à clorpromazina. A presença de ácido ascórbico, além de prejudicar as medidas eletroquímicas também causa interferência nas medidas espectrofotométricas. Isto ocorre porque a clorpromazina, oxidada na superfície do eletrodo, forma o cátion radicalar que absorve em 524 nm, que reage em solução com o ácido ascórbico e volta a sua forma reduzida incolor^[231]. Para suplantar este problema é necessário oxidar todo ou pelo menos grande parte do ácido ascórbico presente na amostra. O benefício da eliminação do ácido ascórbico pode ser percebido ainda na Figura 97 quando, após o

terceiro voltamograma cíclico sua interferência deixa de ser observada nas medidas nas espectrofotométricas.

DETERMINAÇÃO DE CLORPROMAZINA NO AMPLICTIL GOTAS

A princípio, como metodologia alternativa estudou-se a aplicação da técnica *stopped flow*, por tempo suficiente para promover a oxidação do ácido ascórbico. Como se pode observar na Figura 98, devido à interferência do ácido ascórbico, os três primeiros volumes de amostra injetados apresentam sinal de corrente mas não os correspondentes picos de absorbância. Com a interrupção do fluxo, durante a passagem da quarta zona de amostra, verifica-se o surgimento do sinal de absorbância referente a eletro-oxidação da clorpromazina.

Figura 98. Medidas de corrente e absorbância sob *stopped-flow* em FIA. Solução de *Amplictil* gotas contendo $5,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de clorpromazina em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Alça de amostragem: $300 \mu\text{L}$. Potencial aplicado: $0,800 \text{ V vs. Ag/AgCl}$. Vazão: $2,8 \text{ mL min}^{-1}$.

Esta abordagem, até então inédita em espectroeletroanalítica, revelou não ser a mais adequada. A interrupção do fluxo facilitava a entrada de bolhas de ar no sistema, ocasionando constantes interferências nas medidas de corrente e absorbância.

Para contornar o problema causado pela presença de ácido ascórbico na amostra de *Amplictil* gotas, passou-se a reduzir a distância entre os eletrodos de trabalho de $500 \mu\text{m}$

para 150 μm , e a vazão de 2,8 mL min^{-1} para 2,0 mL min^{-1} . Esta condição mostrou-se suficiente para oxidar parte do ácido ascórbico e permitir, desta forma, a detecção espectrofotométrica da clorpromazina em 524 nm. Na Figura 99 pode-se observar os picos obtidos no modo FIA para a determinação de clorpromazina no *Amplictil* gotas.

Figura 99. Medidas de absorbância vs. tempo. Adição de padrão, em FIA, de clorpromazina no *Amplictil* gotas. Alça de amostragem: 300 μL . Vazão: 2,0 mL min^{-1} . Potencial aplicado: 0,800 V vs. Ag/AgCl.

Com os valores obtidos do gráfico da Figura 99, construiu-se a curva da Figura 100, onde cada ponto do gráfico refere-se a uma média de duas determinações.

Figura 100. Medidas de absorbância vs. concentração adicionada. Adição de padrão, em FIA, de clorpromazina no *Amplictil* gotas. Alça de amostragem: 300 μ L. Vazão: 2,0 mL min⁻¹. Potencial aplicado: 0,800 V vs. Ag/AgCl.

COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS

A metodologia oficial sugerida British Pharmacopoeia^[149] baseia-se na titulação potenciométrica do fármaco, com solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹, utilizando eletrodo de vidro. Já o método proposto pela United States Pharmacopoeia^[150], que varia em função da forma de apresentação do medicamento, baseia-se na realização de medidas de absorbância na região do ultravioleta ($\lambda = 254$ nm).

O ácido ascórbico presente na formulação em gotas, além de absorver na região do ultravioleta, com $\lambda_{\text{máx}}$ em 245 nm, também causa interferências na titulação potenciométrica. Desta forma, nenhum dos métodos oficiais pode ser empregado na determinação da clorpromazina no *Amplictil* gotas sem a extração prévia do ácido ascórbico.

O laboratório de controle de qualidade do fabricante do *Amplictil*, Aventis, foi contatado a fim de se estabelecer um intercâmbio e validar os resultados obtidos por comparação dos valores encontrados com os valores fornecidos pelo fabricante. Alegando questões de segurança e sigilo industrial, nenhum detalhe sobre a metodologia empregada foi revelado. Os resultados obtidos pelo método proposto para o lote 205242 foram comparados com o valor fornecido pelo fabricante e são apresentados na Tabela 9. O valor nominal de bula (Aventis) é de 0,04 g/ml.

Tabela 9. Determinação de clorpromazina no *Amplictil* gotas, pelo método proposto e o aplicado pelo fabricante. Valor nominal: 0,04 g/mL. * Valor médio de triplicata. ** Método usado pelo fabricante (Aventis).

Metodologia empregada			
Medicamento	Deteção	Adição de padrão (g/mL)	Método de referência
Amplictil (0,04 g/mL)	Espectrofotométrica	0,042 ± 0,002*	0,0396**

No caso do método proposto o valor encontrado refere-se a uma média de três determinações. Observa-se que não há diferença significativa entre os resultados e que o valor encontrado está em concordância com o valor nominal do produto e dentro dos limites especificados.

CONCLUSÕES PARCIAIS

O método espectroeletroanalítico, em fluxo, proposto para a determinação da clorpromazina em medicamentos é, além de simples, sensível e seletivo. Nenhuma etapa de pré-tratamento da amostra é necessária e sua aplicação pode ser diretamente estendida a formulações farmacêuticas mais complexas.

A necessidade de redução da vazão, no caso da amostra de *Amplictil* gotas, tem repercussão direta na frequência de amostragem. Todavia, o tempo gasto para a construção de uma curva analítica, utilizando o método da adição de padrão, é comparável, se não menor, que o consumido para realizar o pré-tratamento da amostra, com a extração do ácido ascórbico, e obter uma única curva de titulação potenciométrica, como proposto pela metodologia oficial.

Os resultados obtidos na determinação da clorpromazina no *Amplictil* (Aventis) mostraram-se satisfatórios e suficientemente confiáveis, para que a metodologia proposta possa ser empregada com alternativa aos métodos oficiais existentes.

Estes resultados foram submetidos para publicação de artigo científico^[232].

CAPÍTULO 8 - CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

CONCLUSÕES

A célula espectroeletroquímica idealizada, construída e avaliada, dentro de suas potencialidades e limitações, mostrou-se apta ao propósito principal para o qual foi criada, descortinar do uso de técnicas espectroeletroquímicas para fins analíticos.

A célula desenvolvida revelou-se singular quanto ao conjunto de características reunidas: camada delgada regulável, longo caminho óptico e elevada área superficial do eletrodo de trabalho, proporcionada pelo uso de eletrodos gêmeos. Destaca-se, ainda, entre outras peculiaridades, pela facilidade de construção, capacidade de adaptação à instrumentação comercial existente e o baixo custo. A montagem da célula, dependendo da região espectral de interesse, pode ser realizada dentro de qualquer cubeta, acrílica ou de quartzo, com 1 cm de caminho óptico.

O uso de eletrodos de filme de Au, os Au-Cdtrodos, na construção de células espectroeletroquímicas é completamente inovador. Estes eletrodos, por apresentarem superfície plana, regular e isenta de espécies adsorvidas, dispensam qualquer tipo de pré-tratamento laborioso, e proporcionam um custo final ínfimo comparado a qualquer outro modelo proposto.

Avaliação da célula com os dois sistemas modelo, *o*-tolidina e hexacianoferrato, revelou que, além de apresentar alta sensibilidade óptica, com operação estável e reprodutível, a célula espectroeletroquímica permite controle adequado do potencial do eletrodo de trabalho – proporcionado pelo posicionamento do eletrodo de referência – e curto tempo de eletrólise exaustiva, quando operada no modo estacionário. Em condições usuais, a dupla área efetiva do eletrodo de trabalho mostrou-se capaz de proporcionar, sob condições dinâmicas (1 mL min^{-1}), eficiência de conversão eletroquímica de cerca de 30%.

A colocação de um calço de alguns milímetros sob a cubeta ao instalá-la no suporte do compartimento de amostras do espectrofotômetro, habilita a célula para realização de medidas espectrofotométricas *in situ*, com operação no modo estacionário (p.ex., para estudos cinéticos) ou dinâmico (FIA ou *stopped flow*). Mesmo para medidas em condição

estacionária, não há necessidade de desmontar a célula para a troca de amostras, pois basta injetar com uma seringa a nova amostra.

As potencialidades da célula foram exploradas mediante a realização de um estudo comparativo entre três diferentes derivados fenotiazínicos, a prometazina, a promazina e a clorpromazina. Verificou-se que em meio fortemente ácido, H_2SO_4 $2,0 \text{ mol L}^{-1}$, os três compostos apresentam comportamento similar, ou seja, que sob esta condição, possivelmente um único produto de oxidação é formado, o cátion radicalar, cuja estabilização é favorecida pela elevada acidez do meio. Em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ou em tampão HOAc/NaOAc $1/1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7), observou-se o comportamento distinto da prometazina em relação aos outros dois derivados, evidenciado pelo surgimento de uma segunda banda de absorção com $\lambda_{\text{máx}} = 420 \text{ nm}$.

A combinação de informações voltamétricas e espectroscópicas, junto com o exame das estruturas de ressonância, leva a crer que a banda observada em $\lambda_{\text{máx}} = 420 \text{ nm}$, para a prometazina, refere-se à formação de uma outra espécie intermediária, possivelmente o dicátion. Acredita-se que a prometazina, por apresentar cadeia lateral menor que a dos outros dois derivados, é capaz de estabilizar a forma duplamente oxidada, através da interação eletrônica entre o grupo amina da cadeia lateral e o anel fenotiazínico, revelando que, embora o meio de trabalho possa exercer considerável influência no mecanismo de oxidação, a estrutura da cadeia lateral é, para os compostos estudados, fator preponderante na formação dos produtos de oxidação.

A potencialidade analítica da célula espectroeletroquímica foi demonstrada com o desenvolvimento de métodos espectroeletroanalíticos em fluxo para a determinação de derivados fenotiazínicos, tais como a prometazina e da clorpromazina, largamente empregadas em formulações farmacêuticas.

Baseado na oxidação eletroquímica do derivado fenotiazínico de interesse e no monitoramento espectrofotométrico do produto de oxidação formado, o método espectroeletroanalítico proposto apresenta como principais vantagens: rapidez, elevada sensibilidade e seletividade. Comparado a outros métodos, em fluxo, utilizados na quantificação de derivados fenotiazínicos, este é mais simples em termos de instrumentação e custo por análise. A oxidação eletroquímica do derivado fenotiazínico dispensa a utilização de poderosos agentes oxidantes e evita a geração de resíduos tóxicos, tais como sais de

cromo e cianeto, bem como, trabalho com meio menos agressivo (H_2SO_4 0,1 mol L⁻¹ no lugar de H_2SO_4 > 5 mol L⁻¹). Adicionalmente, além do consumo mínimo de reagentes, a instrumentação necessária encontra-se facilmente disponível em quase todos os laboratórios analíticos e a célula espectroeletroquímica pode ser montada utilizando componentes baratos e acessíveis.

A despeito da complexidade da matriz, nenhum pré-tratamento foi necessário nas aplicações estudadas, porque a combinação de informações eletroquímicas e espectrofotométricas contribuiu para a alta seletividade do método e melhor discriminação entre o sinal do analito e de interferentes. No caso da presença de corantes na amostra, a injeção sem aplicação de potencial fornece o valor (branco) da amostra a ser subtraído do sinal. Na presença de compostos associados eletroativos, dependendo de seu potencial de oxidação, é provável que ocorra alguma interferência nas medidas eletroquímicas. Neste caso, a existência de diferenças espectrais pode ser explorada, com a escolha adequada do comprimento de onda para quantificação dos derivados fenotiazínicos.

Os métodos espectroeletroanalíticos em fluxo propostos para determinação de prometazina em *Fenergan* (Rhodia-Farma) e *Lisador* (Farmasa), e de clorpromazina no *Ampectil* (Aventis) são mais rápidos e econômicos e apresentam resultados equivalentes aos dos métodos de referência ou praticados na indústria farmacêutica. Para a prometazina os limites de detecção foram determinados em $1,3 \cdot 10^{-6}$ mol L⁻¹ e $3,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹ para as medidas espectrofotométricas e eletroquímicas, enquanto os limites de quantificação foram estimados em $1,1 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ e $2,2 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹ para as medidas eletroquímicas e espectrofotométricas, respectivamente. Para a clorpromazina, os limites de detecção foram de $7,6 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹ e $4,1 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹ para as medidas eletroquímicas e espectrofotométricas, enquanto os limites de quantificação foram determinados em $3,3 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ e $1,6 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ para as medidas eletroquímicas e espectrofotométricas, respectivamente.

Em suma, fica demonstrada a tese de que a espectroeletroanalítica em fluxo, quando praticada com instrumentação como a proposta, é uma alternativa viável e atraente, em termos de rapidez e seletividade, para determinação de compostos fenotiazínicos em formulações farmacêuticas, e apresenta grande potencialidade –a ser explorada– para uma infinidade de outras aplicações.

PERSPECTIVAS

As discussões e conclusões apresentadas neste trabalho permitem vislumbrar amplas possibilidades de prosseguimento das pesquisas, seja no aperfeiçoamento da célula espectroeletroquímica, seja em sua aplicação analítica, sendo registradas a seguir, algumas potenciais vertentes:

- ✓ Aplicação do método espectroeletroanalítico, em fluxo, à quantificação de outros derivados fenotiazínicos;
- ✓ Aplicação do método espectroeletroanalítico, em fluxo, à quantificação de fármacos associados, explorando as diferenças espectrais e voltamétricas existentes;
- ✓ Estudo de radicais com estabilidade superior a 1 segundo.
- ✓ Desenvolvimento de método espectroeletroanalítico para a determinação simultânea de metais na forma de complexos coloridos de espectros similares, antes e após a mudança do estado de oxidação de um ou mais metais, levando à sua mudança de cor ou eletrodeposição;
- ✓ Modificação da superfície do eletrodo, p.ex., com filmes poliméricos, catalíticos ou de outros metais eletrodepositados, para aumentar a seletividade ou ampliar a gama de analitos ao alcance da técnica.
- ✓ Ampliação das modalidades de espectroeletroquímica praticáveis, mediante modificação da célula em fluxo para que o Au-CDtrodo seja monitorado nos modos de reflectância, fluorescência ou quimiluminescência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Brett, A. M. O. & Brett, C. M. A.; *Electroquímica. Princípios, Métodos e Aplicações*; Oxford University Press; Oxford, (1993).
- 2 Bard, A. J. and Faulkner, L. R.; *Electrochemical Methods. Fundamentals and Applications*; J. Wiley & Sons, (1980).
- 3 Kuwana, T.; Darlington, R. K.; Leedy, D. W.; *Anal. Chem.* 36 (1964) 2023.
- 4 Heineman, W. R.; *Anal. Chem.* 50 (1978) 390A.
- 5 Jeanmaire, D. L.; Suchanski, M. R.; Van Duyne, R. P.; *J. Am. Chem. Soc.* 97 (1975) 1699.
- 6 Müller, J.; Kikuchi, A.; Bill, E.; Weyhermüller, T.; Hildebrandt, P.; Ould-Moussa, L.; Wieghardt, K.; *Inorg. Chim. Acta* 297 (2000) 265.
- 7 Holze, R.; *Electrochem. Acta* 38 (1993) 947.
- 8 Bard, A. J. and Faulkner, L. R.; *Electroanalytical Chemistry*; Vol. 10, A. J. Bard, Marcel Dekker, Ney York, 1997.
- 9 McKinney, T. M.; *Electroanalytical Chemistry*; Vol. 10, A. J. Bard, Marcel Dekker, Ney York, 1997.
- 10 Richards, J. A.; Evans, D. H.; *Anal. Chem.* 47 (1975) 964.
- 11 Petek, M.; Bruckenstein, S.; *J. Electroanal. Chem.* 47 (1973) 329.
- 12 Coles, B. A.; Compton, R. G.; *J. Electroanal. Chem.* 144 (1983) 87.
- 13 Petr, A.; Dunsch, L.; Neudeck, A.; *J. Electroanal. Chem.* 412 (1996) 153.
- 14 Kuwana, T.; Strojek, J. W.; *Discuss. of the Faraday Soc.* 45 (1968) 134.
- 15 Ma, S.; Wu, Y. and Wang, Z.; *J Electroanal. Chem.* 464 (1999) 176.
- 16 Kuwana, T. and Bunsenges; *Phys. Chem.* 77 (1973) 858.
- 17 Wang, Z.; Li, X.; Wu, Y.; Tang, Y.; Ma, S.; *J. Electroanal. Chem.* 464 (1999) 181.
- 18 Walczak, M. M.; Flynn, N. T.; *J. Electroanal. Chem.* 441 (1998) 43.
- 19 Babaei, A.; McQuillan, A. James; *J. Electroanal. Chem.* 451 (1998) 197.
- 20 Holze, R.; malinauskas A.; *Electrochimica Acta* 44 (1999) 2613.
- 21 Niu, J.; Dong, S.; *Electrochimica Acta* 38 (1993) 257.
- 22 Owens, J. L.; Dryhurst, G.; *J. Electroanal. Chem.* 80 (1997) 171.
- 23 McCreery, R. L.; *Anal. Chem.* 49 (1977) 206.
- 24 Owens, J. L.; Marsh Jr., H. A.; Dryhurst, G.; *J. Electroanal. Chem.* 91 (1978) 231.

-
- 25 Marsh Jr., H. A.; Dryhurst, G.; *J. Electroanal. Chem.* 95 (1979) 81.
- 26 Wrona, H. A.; Owens, J. L.; Dryhurst, G.; *J. Electroanal. Chem.* 105 (1979) 295.
- 27 Jarbawi, T. B.; Heineman, W. R.; *J. Electroanal. Chem.* 132 (1982) 323.
- 28 Cleary, M. T.; Owens, J. L.; Dryhurst, G.; *J. Electroanal. Chem.* 123 (1981) 265.
- 29 Conway, A. C.; Goyal, R. N.; Dryhurst, G.; *J. Electroanal. Chem.* 123 (1981) 243.
- 30 Bowden, E. F.; Hawkridge, F. M.; *J. Electroanal. Chem.* 125 (1981) 367.
- 31 Tam, K. P.; Wang, R. L.; Lee, C. W.; Compton, R. G.; *Electroanal.* 9 (1997) 219.
- 32 Kuwana, T.; Heineman, W. R.; *Anal. Chem.* 9 (1976) 241.
- 33 DeAngelis, T. P.; Heineman, W. R.; *J. Chem. Educ.* 53 (1976) 594.
- 34 Büschel, M.; Stadler, C.; Lambert, C.; Beck, M.; Daub, J.; *J. Electroanal. Chem.* 484 (2000) 24.
- 35 Oyama, M.; Nozaki, K.; Okazaki, S.; *Anal. Chem.* 63 (1991) 1387.
- 36 Kim, S. H.; Lee, J. W.; Yeo, I.-H.; *Electrochimica Acta* 45 (2000) 2889.
- 37 Heineman, W. R.; Burnett, J. N.; Murray, R. W.; *Anal. Chem.* 40 (1968) 1970.
- 38 Pinkerton, T. C.; Hajizadeh, K.; Deutsch, E.; Heineman, W. R.; *Anal. Chem.* 52 (1980) 1542.
- 39 Stolzenberg, A. M.; Spreer, L. O.; Holm, R. H.; *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980) 364.
- 40 Norvell, V. E.; Mamantov, G.; *Anal. Chem.* 49 (1977) 1470.
- 41 Heineman, W. R.; Norris, B. J.; Goelz, J. F.; *Anal. Chem.* 47 (1975) 79.
- 42 Murray, R. W.; Heineman, W. R.; O'Dom, G. W.; *Anal. Chem.* 39 (1967) 1666
- 43 Norvell, V. E.; Mamantov, G.; *Anal. Chem.* 49 (1977) 1470.
- 44 Yildiz, A.; Kissinger, P. T.; Reilley, C. N.; *Anal. Chem.* 40 (1968) 1018.
- 45 Neal, T. E.; Murray, R. W.; *Anal. Chem.* 42 (1970) 1654.
- 46 Heineman, W. R.; DeAngelis, T. P.; Goelz, J. F.; *Anal. Chem.* 47 (1975) 1364.
- 47 Norris, B. J.; Meckstroth, M. L.; Heineman, W. R.; *Anal. Chem.* 48 (1976) 630.
- 48 Stargardt, J. F.; Hawkridge, F. M.; Landrum, H. L.; *Anal. Chem.* 50 (1978) 930.
- 49 Powell, L. A.; Wightman, R. M.; *Anal. Chim Acta* 342 (1997) 13.
- 50 Fang, Y.-Z.; Long, D.; Ye, J.; *Anal. Chem.* 40 (1968) 1970.
- 51 Spreitzer, H.; Scholz, M.; Gescheidt, G.; Daub, J.; *Liebigs Ann.* (1996) 2069.
- 52 Sun, H.-R.; Zhang, S.-Y.; Xu, J.-Q.; Yang, G.-Y.; Shi, T.-S.; *J. Electroanal. Chem.* 455 (1998) 57.
- 53 Igo, D. H.; Elder, R. C.; Heineman, W. R.; *J. Electroanal. Chem.* 314 (1991) 45.

-
- 54 Tyson, J. F.; *Talanta* 33 (1986) 51.
- 55 Lezna, R. O.; Tacconi, N. R.; Hahn, F.; Arvia, A. J.; *J. Electroanal. Chem.* 306 (1991) 259.
- 56 Tyson, J. F.; West, T. S.; *Talanta* 26 (1979) 117.
- 57 Borrás, C. A.; Romagnoli, R.; Lezna, R. O.; *Electrochim. Acta* 45 (2000) 1717.
- 58 Babic, R.; Metikos-Hukovic, M.; *Thin Solid Films* 395 (2000) 88.
- 59 Marinkovic, N. S.; Marinkovic, J. S.; Adzic, R. R.; *J. Electroanal. Chem.* 467 (1999) 291.
- 60 Nekrasov, A.; Ivanov, V. F.; Vannikov, A. V.; *J. Electroanal. Chem.* 482 (2000) 11.
- 61 Zhu, Y.; Cheng, G.; Dong, S.; *Electroanalysis* 10 (1998) 955.
- 62 Yamaoka, K.; Charney, E.; *J. Am. Chem. Soc.* 94 (1972) 8963.
- 63 Dong, S.; Zhu, Y.; *Langmuir* 7 (1991) 394.
- 64 Kuwana, T.; Heineman, W. R.; *Acc. Chem. Res.* 77 (1973) 858.
- 65 Heineman, W. R.; Hawkridge, F. M.; Blount, H. N.; Bard, *Electroanalytical Chemistry*, Vol. 13, A. J. Bard, Marcel Dekker, New York, 1984.
- 66 Heineman, W. R.; Kuwana, T.; *Anal. Chem.* 43 (1971) 1075.
- 67 Tyson, J. F.; West, T. S.; *Talanta* 26 (1978) 117.
- 68 Heineman, W. R.; Goelz, J. F.; *J. Electroanal. Chem.* 89 (1978) 437.
- 69 Petek, M.; Neal, T. E.; Murray, R. W.; *Anal. Chem.* 43 (1971) 1069.
- 70 Stargardt, J. F.; Hawkridge, F. M.; Landrum, H. L.; *Anal. Chem.* 50 (1978) 930.
- 71 Scott, N. S.; Oyama, N.; Anson, F. C.; *J. Electroanal. Chem.* 110 (1980) 303
- 72 Evans, J. F.; Blount, H. N.; Ginnard, C. R.; *J. Electroanal. Chem.* 59 (1975) 169.
- 73 Torimura, M.; Mochizuki, M. Kano, K.; Ikeda, T.; Ueda, T.; *Anal. Chem.* 70 (1998) 4690.
- 74 Sorrels, J. W.; DeWald, H. D. *Electroanal.* 4 (1992) 487.
- 75 Flowers, P. A.; Maynor, M. A.; Owens, D. E.; *Anal. Chem.* 74 (2002) 720.
- 76 Zak, J. K.; Butler, J. E.; Swain, G. M.; *Anal. Chem.* 73 (2001) 908.
- 77 Stotter, J.; Zak, J. K.; Behler, Z. Show, Y.; Swain, G. M.; *Anal. Chem.* 74 (2002) 5924.
- 78 Stotter, J.; Haymond, S.; Zak, J. K.; Show, Y.; Cvackova, Z.; Swain, G. M.; *Electrochem. Soc. Interface* Spring 12 (2003) 33.
- 79 Pruiksma, R.; McCreery, R. L.; *Anal. Chem.* 51 (1979) 2253.
- 80 Dong, S. J.; Zhu, Y. C.; Cheng G. J.; *Langmuir* 7 (1991) 389.
- 81 Xie, Q.; Kuang, W.; Nie, L.; Yao, S.; *Anal. Chim. Acta* 276 (1993) 411.
- 82 Heering, H. A.; Hagen, W. R.; *J. Electroanal. Chem.* 364 (1994) 235.
- 83 Zak, J.; Porter, M. D.; Kuwana, T.; *Anal. Chem.* 55 (1983) 2219.

-
- 84 Simone, M. J.; Heineman, W. R.; Kreishman, G. P.; *Anal. Chem.* 54 (1982) 2382.
- 85 Niu, J.; Dong, S.; *Electroanal.* 7 (1995) 1059.
- 86 Simmons, N. J.; Porter, M. D.; *Anal. Chem.* 69 (1997) 2866.
- 87 Rubim, J. C.; Gutz, I. G. R.; Sala, O.; *Chem. Phys. Lett.* 111 (1984) 117.
- 88 Rubim, J. C.; Gutz, I. G. R.; Sala, O.; *J. Electroanal. Chem.* 199 (1985) 55.
- 89 Gueutin, C.; Lexa, D.; *Electroanal.* 11 (1996) 1029.
- 90 Kardash, D.; Huang, J.; Korzeniewski, C.; *J. Electroanal. Chem.* 476 (1999) 95
- 91 Flowers, P. A.; Nealy, G.; *Anal. Chem.* 62 (1990) 2741.
- 92 Kirchhoff, J. R.; Lee, Y. F.; *Anal. Chem.* 65 (1993) 3430.
- 93 Kirchhoff, J. R.; Lee, Y. F.; *J. Am. Chem. Soc.* 116 (1994) 3599.
- 94 Kirchhoff, J. R.; *Current Separations* 16 (1997) 11.
- 95 López-Palacios, J.; Colina, A.; Heras, A.; Ruiz, V.; Fuente, L.; *Anal. Chem.* 73 (2001) 2883.
- 96 López-Palacios, J.; Colina, A.; Heras, A.; Ruiz, V.; Seeber, R.; *Electrochem. Comm.* 4 (2002) 451.
- 97 Brewster, J. D.; Anderson, J. L.; *Anal. Chem.* 54 (1982) 2561.
- 98 Salbeck, J.; *J. Electroanal. Chem.* 340 (1992) 169.
- 99 Shi, P.; Scherson, D. A.; *Anal. Chem.* 76 (2004) 2398.
- 100 Wang, Z.; Zhao, M.; Scherson, D. A.; *Anal. Chem.* 66 (1994) 4560.
- 101 Flowers, P. A.; Maynor, M. A.; Owens, D. E.; *Anal. Chem.* 74 (2002) 720.
- 102 Gui, Y.; Soper, S. A.; Kuwana, T.; *Anal. Chem.* 60 (1988) 1645.
- 103 Atticiati, A. B.; *Dissertação de mestrado*; IQ-USP, 1997.
- 104 Karlberg, B.; Pacey, G.; *Flow Injection Analysis. A Practical Guide*; Ed. Elsevier, New York, 1989.
- 105 Ruzicka, J.; Hansen, E.; *Flow Injection Analysis*; 2 end., Ed. John Wiley & Sons, New York, 1988
- 106 Gouveia, V. J. P.; Gutz, I. G. R.; Rubim, J. C.; *J. Electroanal. Chem.* 371 (1994) 37.
- 107 Forcé, R. K.; *Anal. Chem.* 60 (1998) 1987.
- 108 Pothier, N. J.; Forcé, R. K.; *Anal. Chem.* 62 (1990) 687.
- 109 Dorr, R.; Grabner, E. W.; *Ber Bunsen-Ges. Phys. Chem.* 82 (1978) 164.
- 110 Zhao, M.; Scherson, D. A.; *Anal. Chem.* 64 (1992) 3064.
- 111 Wang, R. L.; Tam, K. Y.; Compton, R. G.; *J. Electroanal. Chem.* 434 (1997) 105.

-
- 112 Barbour, R.; Wang, Z.; Bae, I.; Tolmachev, Y. V.; Scherson, D. A.; *Anal. Chem.* 67 (1995) 4024.
- 113 Osteryoung, J. Em *Microelectrodes: Theory and Applications*; Montenegro, M. I.; Queirós, M. A.; Dasbach, J., eds.; Applied Sciences: London, 1991.
- 114 Wrightman, R. M.; Wipt, D. O.; Em *Electroanalytical Chemistry*, vol15, Bard, A. J.; Marcel Dekker, Ney York 1989.
- 115 Xie, Y.; Che, G.; Dong, S.; *Electrochimica Acta* 36 (1991) 203.
- 116 Robinson, R. S.; McCreery, R. L.; *Anal. Chem.* 53 (1981) 997.
- 117 Mosier-Boss, P. A.; Newbery, R.; Szpak, S.; Lieberman, S. H.; *Anal. Chem.* 68 (1996) 3277.
- 118 Rosa-Montañez, M. E.; De Jesus-Cardona, H.; Cabrera-Matinez, C. R.; *Anal. Chem.* 70 (1998) 1007.
- 119 Chen, H.-Y.; Long, Y.-T.; *Anal. Chim. Acta* 382 (1999) 171.
- 120 Chen, H.-Y.; Long, Y.-T.; *Anal. Chim. Acta* 420 (2000) 45.
- 121 Sioda, R. E.; *Electrochimica Acta* 13 (1968) 375.
- 122 Kihara, S.; *J. Electroanal. Chem.* 45 (1973) 51.
- 123 Torimura, M.; Mochizuki, M.; Kano, K.; Ikeda, T.; Ueda, T.; *Anal. Chem.* 70 (1998) 4690.
- 124 Yamanuki, M.; Oyama, M.; Okazaki, S.; *Vibr. Spectrosc.* 13 (1997) 2241.
- 125 Oyama, M., Nozaki, K.; Okazaki, S.; *Anal. Chem.* 63 (1991) 1387.
- 126 Daniel, D.; *Dissertação de mestrado*; IQ-USP, 2000.
- 127 Maghasi, A. T.; Conklin, S. D.; Shtoyko, T.; Piruska, A.; Richardson, J. N.; Seliskar, C. J.; Heineman, W. R.; *Anal. Chem.* 76 (2004) 1465.
- 128 Shtoyko, T.; Conklin, S.; Maghasi, A. T.; Richardson, J. N.; Piruska, A.; Seliskar, C. J.; Heineman, W. R.; *Anal. Chem.* 76 (2004) 1466.
- 129 Gao, L.; Seliskar, C. J.; Heineman, W. R.; *Electroanal.* 13 (2001) 613.
- 130 Heineman, W. R.; Seliskar, C. J.; Richardson, J. N.; *Aust. J. Chem.* 56 (2003) 93.
- 131 Jacob, L. S.; *Pharmacology*; Harvwal Publishing Company, (1992).
- 132 Girard, Y.; Hamel, P.; Thérien, M.; Springer, J. P.; Hirshfield, J.; *J. Org. Chem.* 52 (1987) 4000.
- 133 Bilikiewicz, A.; *Clinical Psychiatry*, 2nd ed., PWN Warsaw (1973).
- 134 Karpinska, J.; Starczewska, B.; Puzanowska-Tarasiewicz, H.; *Anal. Sci.* 12 (1996) 161.
- 135 Forrest, I. S.; Green, D. E.; *J. Forensic Sci.* 17 (1972) 592.

-
- 136 Ohnishi, S.; McConnell, H.; *J. Am. Chem. Soc.* 87 (1965) 2293.
- 137 Pastor, T. J., Antonijevic, M. M.; *Analyst* 109 (1984) 235.
- 138 Pelizzetti, E.; Giordano, R.; *J. Chem. Soc. Dalton* (1979) 1516.
- 139 Cheng H.-Y.; Sackett, P. H.; McCreery, R. L.; *J. Med. Chem.* 21 (1978) 948.
- 140 Cheng H.-Y.; Sackett, P. H.; McCreery, R. L.; *J. Am. Chem. Soc.* 100 (1978) 962.
- 141 Sackett, P. H.; Mayausky, J. S.; Smith, T.; Kalus, S.; McCreery, R. L.; *J. Med. Chem.* 24 (1981) 1342.
- 142 Minakata, K.; Suzuki, O.; Ishikawa, Y.; Seno, H.; Harada, N.; *Forensic Sci. International* 52 (1992) 199.
- 143 Sackett, P. H.; McCreery, R. L.; *J. Med. Chem.* 22 (1979) 1447.
- 144 Kabasakalian, P.; McGlotten, J.; *Anal. Chem.* 31 (1959) 431.
- 145 Hanson, P.; Norman, R. O. C.; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* (1973) 264.
- 146 Hanson, P.; Gilbert, B. C.; Clarke, D.; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* (1977) 517.
- 147 Mayausky, J. S.; McCreery, R. L.; *Anal. Chem.* 55 (1983) 308.
- 148 Jian, H.; Xiang, J.; Sun, K.; Sun, J.; Chen, C.; Zhou, B.; Liu, Y.; Xu, G.; *J. Colloid Interface Sci.* 229 (2000) 212.
- 149 The British Pharmacopoeia 1993; Her Majesty's Stationery Office; London (1993).
- 150 The United States Pharmacopeia. USP 25. Rockville: USP Convention, Easton: Mack (2003).
- 151 Zhong, J.; Qi, Z.; Dai, H.; Fan, C.; Li, G.; Matsuda, N.; *Anal. Sci.* 19 (2003) 653.
- 152 Walash, M. I.; Rizk, M.; Abou-Ouf, A. M.; Belal, F.; *Analyst* 108 (1983) 626.
- 153 Basavaiah, K.; Krishnamurthy, G.; *Anal. Sci.* 15 (1999) 67.
- 154 Chatten, M.; Locock, R. A.; Krause, R. D.; *J. Pharm. Sci.* (1970) 588.
- 155 Issa, A. S.; Mahrous, M. S.; *Talanta* 31 (1984) 287.
- 156 Walash, M. I.; Belal, F.; Aly, F. A.; *Talanta* 35 (1988) 320.
- 157 Basavaiah, K.; Krishnamurthy, G.; *Ann. Chim.-Rome* 89 (1999) 623.
- 158 Elansary, A. L.; Elhawary, W. F.; Issa, Y. M.; Ahmed, A. F.; *Anal. Lett.* 32 (1999) 2255.
- 159 Kitamura, K.; Goto, T.; Kitade, T.; *Talanta* 46 (1998) 1433.
- 160 Karpinska, J.; Kojlo, A.; Grudniewska, A.; Puzanowska-Tarasiewicz, H.; *Pharmazie* 51 (1996) 950.
- 161 Revanasiddappa, H. D.; Ramappa, P. G.; *Talanta* 43 (1996) 1291.
- 162 Basavaiah, K.; Swamy, J. M.; *Il Farmaco* 56 (2001) 579.

-
- 163 Basavaiah, K.; Swamy, J. M.; Krishnamurthy, G.; *Anal. Lett.* 33 (2000) 43.
- 164 Basavaiah, K.; Swamy, J. M.; Krishnamurthy, G.; *Anal. Lett.* 32 (1999) 2613.
- 165 Ramesh, K. C.; Gowda, B. G.; Melwanki, M. B.; Seetharamappa, J.; Keshavayya, J.; *Anal. Sci.* 17 (2001) 1101.
- 166 Nagaraja, P.; Dinesh, N. D.; Gowda, N. M. M.; Rangappa, K. S.; *Anal. Sci.* 16 (2000) 1127.
- 167 Pournaghi-Azar, M. H.; Farhadi, Kh.; *Talanta* 44 (1997) 1773.
- 168 Cosofret, V. V.; Buck, R. P.; *Analyst* 109 (1984) 1312.
- 169 Basavaiha, K.; Ramappa, P. G.; *Indian J. Pharm. Sci.* 51 (1989) 231.
- 170 Issa, Y. M.; El-Hawary W. F.; Ahmed, A. F.; *Mikrochim. Acta* 134 (2000) 9.
- 171 Mellinger, J.J.; Keeler, C. E.; *Anal. Chem.* 36 (1964) 1840.
- 172 Paz, J. L. L.; Townshend, A.; *Anal. Commun.* 33 (1996) 31.
- 173 Kojlo, A.; Michalowski, J.; Wolyniec, E.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* 22 (2000) 85.
- 174 Chagonda, L. F. S.; Gaspar, P.; *J Chromatogr.* 156 (1978) 327.
- 175 Mehta, A. C.; *Analyst* 106 (1981) 1119.
- 176 DeOrsi, D.; Gagliardi, L.; Tonelli, D.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* 14 (1996) 1635.
- 177 Stevenson, D.; Reid, E.; *Anal. Lett.* 14 (1981) 1785.
- 178 Wallace, J. E.; Shimek E. L.; Stavchansky, S.; Harris, S. C., *Anal. Chem.* 53 (1981) 960.
- 179 Zimova, N.; Nemec, I.; Zima, J.; *Talanta* 33 (1986) 467.
- 180 Baxter, R. I.; Svehla, G.; *Anal. Chim. Acta* 164 (1984) 171.
- 181 Belal, F.; El-Ashty, S.; Shehata, I. M.; El-Sherbeny, M. A.; El-Sherbeny, D. T.; *Mikrochim. Acta* 135 (2000) 147.
- 182 Dermis, S.; Biryol, I.; *Analyst* 114 (1989) 525.
- 183 Bishop, E.; Hussein, W.; *Analyst* 109 (1984) 229.
- 184 Wang, J.; Freiha, B. A.; *Talanta* 30 (1983) 837.
- 185 Ni, Y.; Wang, L.; Kokot, S.; *Anal. Chim. Acta* 439 (2001) 159.
- 186 Wang, F.; Khaledi, M. G.; *Anal Chem.* 68 (1996) 3460.
- 187 Muijselaar, P. G. H. M.; Claessens, H. A.; Cramers, C. A.; *J Chromatogr.* 135 (1996) 395.
- 188 Wang, R.; Lu, X.; Wu, M.; Wang, E.; *J Chromatogr. B*, 721 (1999) 327.
- 189 Wang, R. Y.; Lu, X. N.; Wu, M. J.; *J. Separation Sci.* 24 (2001) 658.
- 190 Hayen, H.; Karst, U.; *Anal. Chem.* 75 (2003) 4833.
- 191 Karpinska, J.; *Anal. Sci.* 17 (2001) 249.

-
- 192 Calatayud, J. M.; *Flow Injection Analysis of Pharmaceuticals. Automation in the Laboratory*, Taylor & Francis, London, 1996.
- 193 Lima, J. L. F.; C, Montenegro, M. C. B. S. M.; Sales, M. G. F.; *J. of Pharm. Sci.* 86 (1997) 1234.
- 194 Puzanowska-Tarasiewicz, H.; Wolyniec, E.; Kojlo, A.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* 14 (1996) 267.
- 195 Michalowski, J.; Kojlo, A.; Magnuszewska, B.; Trojanowicz, M.; *Anal. Chim. Acta* 289 (1994) 339.
- 196 Kojlo, A.; Wolyniec, E.; Puzanowska-Tarasiewicz, H., *Anal. Lett.* 30 (1997) 2733.
- 197 Kojlo, A.; Calatayud, J. M., *Talanta* 42 (1995) 909.
- 198 Kojlo, A.; Puzanowska-Tarasiewicz, H.; *Anal. Lett.* 26 (1993) 593.
- 199 Sultan, S. M.; *Analyst* 116 (1991) 177.
- 200 Laassis, B.; Aaron, J. J., *Analisis* 25 (1997) 183.
- 201 Sultan, S. M.; Abdernnabi, A. M.; *J. Microchem.* 48 (1993) 343.
- 202 Vogel, A. I.; *Química analítica qualitativa*; 5.ed.; São Paulo: Mestre Jou (1981).
- 203 Aly, F. A.; Alarfaj, N. A.; Alwarthan, A.; *Anal. Chim. Acta* 358 (1998) 255.
- 204 Sultan, S. M.; Hassan, Y. A. M.; Abulkibash, A. M.; *Talanta* 59 (2003) 1073.
- 205 Goyal, R. N.; Jain, N.; Gurnani, V.; *Monatshefte für Chemie* 132 (2001) 575.
- 206 Zeng, B.; Yang, Y.; Ding, X.; Zhao, F.; *Talanta* 61 (2003) 819.
- 207 Bergamin, H.; Zagatto, E. A. G.; Krug, F. J.; Reis, B. F.; *Anal. Chim Acta* 101 (1978) 17.
- 208 Krug, F.J.; Bergamin, F. H.; Zagatto, E. A. G.; *Anal. Chim Acta* 179 (1986) 103.
- 209 Angnes, L.; Richter, E., M.; Augelli, M. A.; Kume, G. M.; *Anal. Chem.* 72 (2000) 5503.
- 210 Pedrotti, J.J.; Angnes, L.; Gutz, I.G.R. *Electroanal.* 8 (1996) 673.
- 211 Munoz, R. A. A.; Matos, R. C.; Angnes, L.; *Talanta* 55 (2001) 855.
- 212 Munoz, R. A. A.; Matos, R. C.; Angnes, L.; *J. Pharm. Sci.* 90 (2001) 1972.
- 213 Yu, H. Z.; *Anal. Chem.* 73 (2001) 4743.
- 214 Richter, E. M.; Pedrotti, J. J.; Angnes, L.; *Electroanal.* 15 (2003) 1871.
- 215 Paixao, T. R. L. C.; Matos, R. C.; Bertotti, M.; *Electroanal.* 15 (2003) 1884.
- 216 Paixao, T. R. L. C.; Matos, R. C.; Bertotti, M.; *Talanta* 61 (2003) 725.
- 217 Paixao, T. R. L. C.; Matos, R. C.; Bertotti, M.; *Electrochim. Acta* 48 (2003) 691.
- 218 Yu, H. Z.; Rowe, A. W.; Waugh, D. M.; *Anal Chem.* 74 (2002) 5742.
- 219 <http://www.kopyrite.com>, acessado em 23/09/2004.

-
- 220 Richter, E. M.; Kume, G. H.; Mioshi, R. N.; Angnes, L.; Augelli, M. A.; *Fresenius J. Anal Chem.* 366 (2000) 444.
- 221 Daniel, D.; Gutz, I.G.R.; *Electroanal.* 13 (2001) 681.
- 222 Banulescu, S.; *Free Radicals in Biology and Medicine* 77 (2001) 222.
- 223 Hall, R. D.; Buettner, G. R.; Chignell, C. F.; *Photochem. Photobiol.* 54 (1991) 167.
- 224 Channu, B. C.; Kalpana, H. N.; Ramesh L.; Eregowda, G. B.; Dass, C.; Thinnaiiah, K. N.; *Anal. Scien.* 16 (2000) 859.
- 225 Merkle, F. H.; Disher, C. A.; *Anal Chem.* 36 (1964) 1639.
- 226 Skoog, D. A.; Holler, J. F.; Nieman, T. A. *Principles of Instrumental Analysis* 5th ed., Cole Publishing (1998).
- 227 ANVISA, resolução nº 899, 29 maio 2003, D. O. U. 02/06/2003.
- 228 Boyd, A. W.; Morrison, R. T.; *Organic Chemistry*, Prentice Hall (1992).
- 229 Baader, J. W., em comunicação pessoal, IQ-USP.
- 230 Daniel, D. and Gutz, I.G.R., *Anal. Chim. Acta* 494 (2003) 215.
- 231 Kleszczewska, E.; Mielech, K.; *J. Trace Microprobe T.* 21 (2003) 203.
- 232 Daniel, D.; Gutz, I. G. R., *J. Pharm. Biomed. Anal.* (submetido).

CURRICULUM VITAE

Nome: Daniela Daniel

Nascimento: 27/02/1974 em São Paulo

Educação

Bacharelado em Química pela Universidade de São Paulo, 1998.

Mestrado em Química Analítica pela Universidade de São Paulo, 2000.

Publicações

1. D. Daniel, I. G. R. Gutz, *Spectroelectrochemical Determination of Chlorpromazine Hydrochloride By Flow-Injection Analysis*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis (no prelo).
2. D. Daniel, A. Cavicchioli, I. G. R. Gutz, *Critical Comparison of Four Simple Adaptors for Flow Amperometric and Stripping Voltammetry with Mercury Drop Electrodes in Batch Cells*, Electroanalysis 2004, 16, 391.
3. D. Daniel, I. G. R. Gutz, *Flow Injection Spectroelectroanalytical Method for the Determination of Promethazine Hydrochloride in Pharmaceutical Preparations*, Analytica Chimica Acta 2003, 494, 215.
4. D. Daniel, I. G. R. Gutz, *Quick Production of Gold Electrode Sets or Array and Microfluidic Cells Based on Heat Transfer of Laser Printed Toner Masks Onto Compact Discs*, Electrochemistry Communications 2003, 5, 782.
5. D. Daniel, I. G. R. Gutz, *Long-Optical-Path Thin Layer Spectroelectrochemical Flow Cell With Inexpensive Gold Electrodes*, Electroanalysis 2001, 13, 681.

Participações em congressos científicos

1. D. Daniel, I. G. R. Gutz, *Método Espectroeletroanalítico, em Fluxo, para a Determinação de Clorpromazina em Medicamentos*, XXVI Congresso Latino Americano de Química e 27°. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química – SBQ, 2004, Salvador, Bahia.
2. D. Daniel, I. G. R. Gutz, A. Cavicchioli, *Amperometric and voltammetric evaluation of novel adaptors for FIA/MDE interfaces*, 9th International Conference on Flow Analysis, 2003, Geelong, Austrália.
3. D. Daniel, I. G. R. Gutz, *Flow injection spectroelectrochemistry and its application to the determination of promethazine in pharmaceutical preparations*, 9th International Conference on Flow Analysis, 2003, Geelong, Austrália.
4. D. Daniel, I. G. R. Gutz, L. Angnes, E. M. Richter, *Construção de microcanais em circuito impresso de cobre e sua aplicação como sensor amperométrico*, XII Encontro Nacional de Química Analítica, 2003, São Luís, Maranhão.
5. D. Daniel, I. G. R. Gutz, *Construção fácil e rápida de eletrodos interdigitados (IDA) produzidos por transferência de máscara de toner*, Encontro Nacional de Química Analítica, 2003, São Luís, Maranhão.
6. D. Daniel, I. G. R. Gutz, *O uso de máscara de toner como espaçador na construção de células microfluídicas*, XII Encontro Nacional de Química Analítica, 2003, São Luís, Maranhão.
7. D. Daniel, I. G. R. Gutz, *Quick preparation of multiple coplanar gold electrodes suitable for microfluidic cells by transfer of laser-printed toner masks onto gold compact discs*, Annual Meeting, International Society of Electrochemistry, 2003, São Pedro, Brasil.
8. D. Daniel, I. G. R. Gutz, *Método eletroanalítico em fluxo para a determinação de prometazina em medicamentos*, XIII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, 2002, Araraquara, São Paulo

-
9. D. Daniel, I. G. R. Gutz, A. Cavicchioli, *Avaliação amperométrica e voltamétrica de dois adaptadores para interfaceamento de sistemas FIA com eletrodos de gota de mercúrio*, 25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2002, Poços de Caldas, Minas Gerais.
 10. D. Daniel, I. G. R. Gutz, *Método espectroeletroanalítico em fluxo para a determinação de prometazina em medicamentos*, 25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2002, Poços de Caldas, Minas Gerais.
 11. D. Daniel, I. G. R. Gutz, *Desenvolvimento de método espectroeletroquímico para análise de prometazina em medicamentos*, XI Encontro Nacional de Química Analítica, 2001, Campinas, São Paulo.
 12. D. Daniel, I. G. R. Gutz, *Long path spectroelectrochemical flow cell with inexpensive gold electrodes*, 8th International Conference Electroanalysis, 2000, Bonn, Alemanha.
 13. D. Daniel, I. G. R. Gutz, *Desenvolvimento e automação de sistema para realização de espectroeletroquímica em fluxo sob decomposição paralela de solvente*, 22ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 1999, Poços de Caldas, Minas Gerais.
 14. D. Daniel, I. G. R. Gutz, *Desenvolvimento e avaliação de coluna eletrolítica com de coluna eletrolítica com separador inonomérico para espectroeletroquímica em fluxo*, X Encontro Nacional de Química Analítica, 1999, Santa Maria, Rio Grande do Sul.