

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Desenvolvimento de metodologia voltamétrica para a quantificação de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina em preparações farmacêuticas antigripais, utilizando eletrodos com diferentes alótropos de carbono

Rafaela Marques Rodrigues

Porto Alegre, Novembro de 2019.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Rafaela Marques Rodrigues

Desenvolvimento de metodologia voltamétrica para a quantificação de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina em preparações farmacêuticas antigripais, utilizando eletrodos com diferentes alótropos de carbono

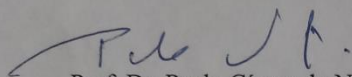
Dissertação apresentada como requisito parcial para a
obtenção do grau de Mestre em Química

Prof. Dr. Alexandre Batista Schneider
Orientador

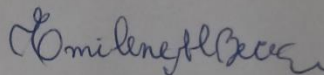
Porto Alegre, Novembro de 2019

A presente dissertação foi realizada inteiramente pelo autor, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período de Março de 2017 e Outubro de 2019, no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, sob orientação do Professor Doutor Alexandre Batista Schneider. A dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Química pela seguinte banca examinadora.

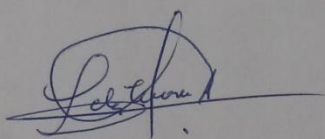
Comissão Examinadora:



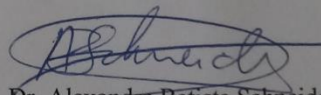
Prof. Dr. Paulo Cícero do Nascimento




Prof. Dra. Emilene Mendes Becker



Prof. Dra. Leliz Ticona Arenas



Prof. Dr. Alexandre Batista Schneider



Rafaela Marques Rodrigues

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Programa de Pós-Graduação em Química pela oportunidade da realização deste trabalho.

À Prof. Dra. Clarisse Maria Sartori Piatnicki, por ter sido sempre tão presente e essencial para minha formação como química e para a finalização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Alexandre Batista Schneider pelo auxílio neste trabalho.

À Kley Hertz Farmacêutica S/A, pela compreensão durante toda a minha jornada na pós-graduação, disponibilizando materiais e informações.

Aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. Paulo Cícero do Nascimento, Profa. Dra. Leliz Arenas e Profa. Dra. Emilene Becker pelas contribuições na finalização deste trabalho.

Aos alunos de iniciação científica Maria Luiza Mendes e Thomas Cardoso, pela ajuda que dispuseram para a conclusão deste trabalho.

À minha grande amiga Pâmela, pelo companheirismo de sempre, ideias e conselhos, em todos os momentos.

À minha querida colega de trabalho Renata, por todo o conhecimento e tempo dividido comigo para a elucidação de minhas dúvidas.

Ao meu noivo, Renato, por toda a paciência, amor e incentivo em todos os momentos.

À minha amada mãe Elizabeth, pelo apoio, amor e carinho incondicionais destinados durante toda a minha vida. Este trabalho é totalmente destinado a ti.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE ABREVIATURAS	xiii
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xv
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 PARACETAMOL.....	3
2.2 CLORIDRATO DE FENILEFRINA	4
2.3 MALEATO DE CLORFENIRAMINA	5
2.4 CARACTERÍSTICAS FARMACOLÓGICAS SIMULTÂNEAS	7
2.5 MÉTODOS PARA A DETERMINAÇÃO DE PARACETAMOL, CLORIDRATO DE FENILEFRINA E MALEATO DE CLORFENIRAMINA	8
2.6 MECANISMO DE OXIDAÇÃO DO PARACETAMOL	9
2.7 MECANISMO DE OXIDAÇÃO DA FENILEFRINA	10
2.8 MECANISMO DE OXIDAÇÃO DA CLORFENIRAMINA.....	11
2.9 DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA E SEQUENCIAL DE PRINCÍPIOS ATIVOS POR TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS	11
2.9.1 Voltametria cíclica	12
2.9.2 Voltametria de varredura linear	13
2.9.3 Voltametria de pulso diferencial	13
2.10 ELETRODOS ALÓTROPOS DO CARBONO	14
2.10.1 Eletrodo de carbono vítreo.....	15
2.10.2 Eletrodo de poli-L-ácido láctico com sal imidazol ligado covalentemente, modificado com óxido de grafeno reduzido.....	15
2.10.3 Eletrodos impressos.....	16
3 OBJETIVO.....	19
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
4 MATERIAIS E MÉTODOS	20
4.1 REAGENTES E SOLUÇÕES	20
4.2 INSTRUMENTAÇÃO	20
4.3 METODOLOGIA	23
4.3.1 Voltametria de pulso diferencial (DPV), voltametria de varredura linear (LV) e voltametria cíclica (CV)	23

4.4	AMOSTRAS.....	24
4.5	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	24
	4.5.1 Eletrodos CSPE, SWCNT-COOH/CSPE e MWCNT-COOH/CSPE.....	25
	4.5.2 Eletrodos PLLA-IS/rGO e GC.....	26
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5.1	OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS pH, POTENCIAL DE ACUMULAÇÃO, TEMPO DE ACUMULAÇÃO E VELOCIDADE DE VARREDURA.....	29
	5.1.1 Variação do pH.....	29
	5.1.2 Variação do potencial de acumulação.....	31
	5.1.3 Variação do tempo de acumulação.....	33
	5.1.4 Variação da velocidade de varredura.....	35
	5.1.5 Estudo da reversibilidade.....	40
5.2	VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO.....	43
	5.2.1 Precisão e linearidade.....	43
	5.2.2 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).....	44
	5.2.3 Exatidão e aplicação em amostras comerciais.....	45
5.3	COMPARAÇÃO DE CUSTOS E TEMPO DE ANÁLISE.....	59
6	CONCLUSÕES.....	62
7	REFERÊNCIAS.....	63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química do paracetamol. ¹¹	3
Figura 2. Estrutura química do cloridrato de fenilefrina. ¹⁸	5
Figura 3. Estrutura química do maleato de clorfeniramina. ¹⁹	5
Figura 4. Mecanismo proposto de oxidação eletroquímica do paracetamol. ⁵¹	10
Figura 5. Mecanismo proposto de oxidação da molécula de fenilefrina. ⁵²	10
Figura 6. Mecanismo proposto de oxidação do maleato de clorfeniramina. ⁵⁰	11
Figura 7. Variação da corrente em função do tempo. ⁵⁷	14
Figura 8. Modelo do eletrodo impresso em cerâmica “screen-printed”. R = Eletrodo de pseudo-referência (Ag/AgCl), A = eletrodo auxiliar (tinta de carbono ou ouro), W = eletrodo de trabalho (tinta de carbono) e C = contato elétrico. ⁶⁸	18
Figura 9. Potenciostato Galvanostato Autolab, PGSTAT302N Methrom.....	21
Figura 10. A) Da esquerda para a direita: Eletrodo impresso modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizado com grupos carboxílicos, eletrodo impresso modificado com nanotubos de carbono de parede única e eletrodo impresso de tinta de carbono. Comparação dimensional com uma tampa de caneta. B) Eletrodo de PLLA-IS/rGO.	22
Figura 11. SWCNT-COOH/CSPE imerso em solução aquosa tamponada a pH 9, em célula eletroquímica com capacidade para 30 mL.....	22
Figura 12. Célula eletroquímica com capacidade de até 100 mL, combinada ao contra-eletrodo de platina (A), eletrodo de trabalho de carbono vítreo (B) e eletrodo de referência de Ag/AgCl (KCl 3 mol L ⁻¹) (C).....	23
Figura 13. Esquema simplificado dos experimentos realizados para a otimização dos parâmetros e para a quantificação de paracetamol, cloridrato de fenilefrina e maleato de clorfeniramina, em formulações farmacêuticas antigripais.....	27
Figura 14. Voltamogramas de pulso diferencial. (A) fenilefrina, 2,4 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ ; E _a = - 0,05 V. (B) clorfeniramina, 1,3 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ , E _a = - 0,95 V. Para ambos os solutos t _a = 60 s, v = 0,12 V s ⁻¹ e pH = 9,00, em presença de amostra comercial. Eletrodo de trabalho PLLA-IS/rGO	32

Figura 15. Voltamogramas de pulso diferencial para A) fenilefrina $2,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e B) clorfeniramina $1,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, E_a (fenilefrina) = - 0,05 V, E_a (clorfeniramina) = - 0,95 V, t_a (fenilefrina, clorfeniramina) = 60 s, v (fenilefrina, clorfeniramina) = $0,12 \text{ V s}^{-1}$, pH (fenilefrina, clorfeniramina) = 9,00, em presença de amostra comercial. Eletrodo de trabalho PLLA-IS/rGO	35
Figura 16. Gráficos da raiz quadrada da velocidade de varredura <i>versus</i> corrente de pico para o paracetamol, nos eletrodos de CSPE, SWCNT-COOH/CSPE, MWCNT-COOH/CSPE, PLLA-IS/rGO e GC.	38
Figura 17. Voltamogramas de varredura linear e de pulso diferencial para A) paracetamol, $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, B) fenilefrina, $2,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e C) clorfeniramina, $1,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, v (paracetamol) = $0,12 \text{ V s}^{-1}$, pH (paracetamol) = 8,00, E_a (fenilefrina) = - 0,05 V, E_a (clorfeniramina) = - 0,95 V, t_a (fenilefrina, clorfeniramina) = 60 s, v (fenilefrina) = $0,09 \text{ V s}^{-1}$, v (clorfeniramina) = $0,10 \text{ V s}^{-1}$, pH (fenilefrina, clorfeniramina) = 9,00, em presença de amostra comercial. Eletrodo de trabalho PLLA-IS/rGO.....	39
Figura 18. Voltamogramas cíclicos para o paracetamol (CSPE, SWCNT-COOH/CSPE, MWCNT-COOH/CSPE: $4,7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, PLLA-IS/rGO e GC: $9,9 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, nos eletrodos estudados. pH 8, $v = 0,12 \text{ V s}^{-1}$	41
Figura 19. Voltamogramas cíclicos para a fenilefrina (CSPE, SWCNT-COOH/CSPE, MWCNT-COOH/CSPE: $2,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, PLLA-IS/rGO e GC: $4,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, nos eletrodos estudados. $\text{pH} = 9$, $v = 0,12 \text{ V s}^{-1}$	41
Figura 20. Voltamogramas cíclicos para a clorfeniramina (CSPE, SWCNT-COOH/CSPE, MWCNT-COOH/CSPE: $1,3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, PLLA-IS/rGO e GC: $2,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, em eletrodos estudados. $\text{pH} = 9$, $v = 0,12 \text{ V s}^{-1}$	42
Figura 21. Voltamogramas lineares para o paracetamol em água, tampão fosfato e alíquota de amostras comerciais em eletrodo CSPE. Paracetamol (a..f): $2,43 \times 10^{-3}$ a $1,15 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. Curva de adição padrão de paracetamol: pH 1,57, $v = 0,11 \text{ V s}^{-1}$	50
Figura 22. Voltamogramas de pulso diferencial para a fenilefrina em água, tampão fosfato e alíquota de amostras comerciais em CSPE. Fenilefrina (a..f): $3,56 \times 10^{-5}$ a $1,72 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Curva de adição padrão de fenilefrina: $\text{pH} = 10,66$, $E_a = - 1,00 \text{ V}$, $t_a = 80 \text{ s}$, $v = 0,12 \text{ V s}^{-1}$	51

Figura 23. Voltamogramas de pulso diferencial para a clorfeniramina, em água, tampão fosfato e alíquota de amostras comerciais em eletrodo CSPE. Clorfeniramina (a..f): $1,83 \times 10^{-5}$ a $8,84 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Curva de adição padrão de clorfeniramina: pH = 12,03, $E_a = 0,50 \text{ V}$, $t_a = 10 \text{ s}$, $v = 0,12 \text{ V s}^{-1}$	51
Figura 24. Voltamogramas lineares para o paracetamol em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, em eletrodo SWCNT-COOH/CSPE. Paracetamol (a..f): $2,43 \times 10^{-3}$ a $1,15 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. Curva de adição padrão de paracetamol: pH 1,57, $v = 0,10 \text{ V s}^{-1}$	52
Figura 25. Voltamogramas de pulso diferencial para a fenilefrina em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, em eletrodo SWCNT-COOH/CSPE. Fenilefrina (a..f): $3,56 \times 10^{-5}$ a $1,72 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Curva de adição padrão de fenilefrina: pH = 10,66, $E_a = -1,25 \text{ V}$, $t_a = 20 \text{ s}$, $v = 0,12 \text{ V s}^{-1}$	53
Figura 26. Voltamogramas de pulso diferencial para a clorfeniramina em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, em eletrodo SWCNT-COOH/CSPE. Clorfeniramina (a..f): $1,83 \times 10^{-5}$ a $8,84 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Curva de adição padrão de clorfeniramina: pH = 12,03, $E_a = -1,15 \text{ V}$, $t_a = 10 \text{ s}$, $v = 0,12 \text{ V s}^{-1}$	53
Figura 27. Voltamogramas lineares para o paracetamol em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, em eletrodo MWCNT-COOH/CSPE. Paracetamol (a..f): $2,43 \times 10^{-3}$ a $1,15 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. Curva de adição padrão de paracetamol: pH 8,0, $v = 0,12 \text{ V s}^{-1}$	54
Figura 28. Voltamogramas de pulso diferencial para a fenilefrina em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, em eletrodo MWCNT-COOH/CSPE. Fenilefrina (a..f): $3,56 \times 10^{-5}$ a $1,72 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Curva de adição padrão de fenilefrina: pH = 9,0, $E_a = -0,95 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$, $v = 0,09 \text{ V s}^{-1}$	55
Figura 29. Voltamogramas de pulso diferencial para a clorfeniramina em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, em eletrodo MWCNT-COOH/CSPE. Clorfeniramina (a..f): $1,83 \times 10^{-5}$ a $8,84 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Curva de adição padrão de clorfeniramina: pH = 9,0, $E_a = -1,15 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$, $v = 0,10 \text{ V s}^{-1}$	55
Figura 30. Voltamogramas lineares para o paracetamol em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, em eletrodo GC. Paracetamol (a..f): $4,97 \times 10^{-4}$ a $2,42 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Curva de adição padrão de paracetamol: pH 8,0, $v = 0,01 \text{ V s}^{-1}$	56

Figura 31. Voltamogramas de pulso diferencial para a fenilefrina em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, em eletrodo GC. Fenilefrina (a..f): $2,37 \times 10^{-5}$ a $1,16 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Curva de adição padrão de fenilefrina: pH = 9,0, $E_a = 0,30 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$, $v = 0,12 \text{ V s}^{-1}$ 57

Figura 32. Voltamogramas de pulso diferencial para a clorfeniramina em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, em eletrodo GC. Clorfeniramina (a..f): $1,34 \times 10^{-5}$ a $6,53 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Curva de adição padrão de clorfeniramina: pH = 9,0, $E_a = -1,40 \text{ V}$, $t_a = 30 \text{ s}$, $v = 0,04 \text{ V s}^{-1}$ 57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentrações (mg g^{-1} / mg compr^{-1}) de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, nas amostras comerciais estudadas	24
Tabela 2. Parâmetros experimentais do método aplicado	28
Tabela 3. Resultados encontrados após a otimização do pH.....	30
Tabela 4. Resultados encontrados após a otimização do potencial de acumulação	31
Tabela 5. Resultados obtidos para a otimização do tempo de acumulação	34
Tabela 6. Resultados encontrados para a otimização da velocidade de varredura	36
Tabela 7. Parâmetros investigados por LV e DPV e seus respectivos resultados otimizados para a determinação de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, nos eletrodos estudados	40
Tabela 8. Precisões obtidas pelo método proposto para paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, nos eletrodos em estudo.....	43
Tabela 9. Linearidades obtidas pelo método proposto para paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, nos eletrodos em estudo	44
Tabela 10. Limites de Detecção (LD) e de Quantificação (LQ), para paracetamol, clorfeniramina e fenilefrina, por voltametria LV e DPV	45
Tabela 11. Determinações e recuperações de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina em amostras comerciais, em eletrodo CSPE. $n = 3$	47
Tabela 12. Determinações e recuperações de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina em amostras comerciais, em eletrodo SWCNT-COOH/CSPE/SWCNT-COOH/CSPE. $n = 3$	47
Tabela 13. Determinações e recuperações de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina em amostras comerciais, em eletrodo MWCNT-COOH/CSPE. $n = 3$	48
Tabela 14. Determinações e recuperações de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina em amostras comerciais, em eletrodo GC. $n = 3$	48
Tabela 15. Resultados obtidos na determinação sequencial de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, em formulações farmacêuticas antigripais, por LV e DPV, em cada um dos eletrodos estudados.....	49

Tabela 16. Custo comparativo de materiais e reagentes para a cromatografia líquida de alta eficiência e a voltametria linear e de pulso diferencial, utilizando eletrodos CSPE, SWCNT-COOH/CSPE, MWCNT-COOH/CSPE e GC. 60

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS: ácido acetilsalicílico.

ANOVA: análise de variância.

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

CLOR: clorfeniramina.

C₆₀: fulereno.

CG: cromatografia gasosa.

CSPE: eletrodo impresso de tinta de carbono, do inglês, “*carbono screen-printed electrode*”.

CV: voltametria cíclica, do inglês, “*cyclic voltammetry*”.

DPV: voltametria de pulso diferencial, do inglês, “*differential pulse voltammetry*”.

FEN: fenilefrina.

GC: eletrodo de carbono vítreo, do inglês, “*glass carbon*”.

PLLA-IS/rGO: poli-L-ácido lático com sal imidazol ligado covalentemente, modificado com óxido de grafeno reduzido, do inglês, “*poly-L-lactic-imidazole salt / reduced graphene oxide electrode*”.

HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês, “*high performance liquid chromatography*”.

LV: voltametria de varredura linear, do inglês, “*linear voltammetry*”.

MWCNT-COOH/CSPE: eletrodo impresso de tinta de carbono modificado com nanotubos de parede múltipla, do inglês, “*multi-wall carbon nanotubes – carbon screen-printed electrode*”.

PAR: paracetamol.

RP-HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência com fase reversa, do inglês, “*reverse phase high performance liquid chromatography*”.

SWCNT-COOH/CSPE: eletrodo impresso de tinta de carbono modificado com nanotubos de parede única, do inglês, “*single-wall carbon nanotubes – carbon screen-printed electrode*”.

SWV: voltametria de onda quadrada, do inglês, “*square wave voltammetry*”.

TCPE: eletrodo de pasta de carbono tradicional, do inglês, “*traditional carbono paste electrode*”.

USP: Farmacopeia Americana, do inglês, “*The United States of America Pharmacopeia*”.

UV-VIS: espectrofotometria no ultra-violeta visível.

RESUMO

Neste trabalho, a quantificação por voltametria de varredura linear e voltametria de pulso diferencial de paracetamol, cloridrato de fenilefrina e maleato de clorfeniramina, respectivamente, foi avaliada, utilizando eletrodos de alótropos do carbono, em amostras farmacêuticas antigripais, como alternativa aos métodos cromatográficos preconizados nos compêndios oficiais, com o intuito de reduzir o tempo de obtenção dos resultados, utilização de uma técnica mais simples e de menor custo financeiro, sem a utilização de solventes tóxicos.

Primeiramente, quatro parâmetros foram otimizados: pH, para os eletrodos impressos de tinta de carbono (CSPA) e de tinta de carbono modificado com nanotubos de parede única (SWCNT-COOH/CSPA), por voltametria de pulso diferencial (DPV). Em seguida, também pela DPV, foram avaliados os parâmetros potencial e tempo de acumulação para a fenilefrina e clorfeniramina, para os eletrodos CSPA, eletrodo impresso de tinta de carbono modificado com nanotubos de parede única (SWCNT-COOH/CSPA), MWCNT-COOH/CSPA, eletrodo de poli-L-ácido láctico com sal imidazol ligado covalentemente, modificado com óxido de grafeno reduzido (PLLA-IS/rGO) e de carbono vítreo (GC). Por último, em todos os eletrodos supracitados foi avaliado o parâmetro velocidade de varredura, por voltametria de varredura linear (LV) para o paracetamol e por DPV para a fenilefrina e clorfeniramina. Voltamogramas cíclicos foram obtidos, a fim de avaliar a reversibilidade do paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina em meio aquoso contendo amostras comerciais dos analitos. A exatidão dos métodos propostos foi avaliada por ensaios de recuperação e medidas por LV e DPV, em soluções contendo amostras comerciais farmacêuticas antigripais. Os resultados obtidos concordaram com um nível de confiança de 95% (teste *t-student*) relativamente aos valores contidos nos rótulos das amostras comerciais. Também, foram encontrados valores de recuperação entre 93 e 107% em ensaios de adição padrão para paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina na mesma célula eletroquímica, sequencialmente, sob as condições previamente otimizadas. Estes resultados estão dentro dos limites preconizados nos compêndios oficiais (90 a 110%).

Palavras chaves: voltametria linear, voltametria de pulso diferencial, paracetamol, fenilefrina, clorfeniramina, amostras farmacêuticas antigripais.

ABSTRACT

In this work, quantification of acetaminophen, phenylephrine hydrochloride and chlorpheniramine maleate, respectively, has been evaluated by linear voltammetry and differential pulse voltammetry using carbon allotrope electrodes in anti-*influenza* pharmaceutical samples, as an alternative to the chromatographic methods recommended in the official compendia, in order to reduce the time to obtain the results, use of a simpler technique and lower financial cost, without the use of toxic solvents.

Preliminarily, four parameters have been optimized: pH, for the carbon ink (CSPA) and singlewall nanotube modified carbon ink (SWCNT-COOH/CSPA) electrodes, by differential pulse voltammetry (DPV). Also by DPV, accumulation potential and accumulation time were evaluated for phenylephrine and chlorpheniramine for CSPA, single wall nanotube modified carbon ink (SWCNT-COOH/CSPA), MWCNT-COOH/CSPA (multiwall nanotube modified carbon ink), PLLA-IS/rGO (poly-L-lactic-imidazole salt / reduced graphene oxide electrode) and glassy carbon (GC) electrodes. Finally, for all aforementioned electrodes, scan rate was evaluated by linear voltammetry (LV) for acetaminophen and by DPV for phenylephrine and chlorpheniramine. In order to evaluate acetaminophen, phenylephrine and chlorpheniramine reversibility, cyclic voltammograms have been obtained in aqueous solution containing real samples. The accuracy of the proposed method was evaluated by recovery assays and LV and DPV measurements in solutions containing commercial pharmaceutical influenza samples. The results obtained were in agreement with a 95% (*t-student* test) confidence level regarding the values contained in the commercial samples labels. Recovery values between 93 and 107% in standard addition assays were found for acetaminophen, phenylephrine and chlorpheniramine in the same electrochemical cell, sequentially, under previously optimized conditions. These results are within the limits recommended by the official compendia (90 – 110%).

Keywords: linear voltammetry, differential pulse voltammetry, acetaminophen, phenylephrine, chlorpheniramine, anti-*influenza* pharmaceutical samples.

1 INTRODUÇÃO

A necessidade de um controle de qualidade confiável e seguro em matérias-primas e, conseqüentemente, em produtos das indústrias farmacêuticas, torna as análises de seus ativos e constituintes de grande importância para os fabricantes, bem como para o consumidor final. Primeiramente, os produtos necessitam possuir os devidos registros junto aos órgãos regulamentadores, que estipulam uma série de estudos físico-químicos e instrumentais. Dentre estes ensaios, a determinação do teor dos princípios ativos, que é regulamentada pelos compêndios oficiais, apresenta-se como o mais importante. Na prática, um maior número de lotes liberados para venda, com qualidade aliada à rapidez, é sinônimo de eficiência, e é de suma importância a utilização de uma técnica robusta, aliada ao baixo custo, para proporcionar a otimização dos processos.

O paracetamol é considerado o analgésico mais utilizado no mundo, desde 1949¹, como alternativa para consumidores com hipersensibilidade à AAS. A fenilefrina é o principal ativo dos medicamentos antigripais, devido sua atividade descongestionante, proporcionando alívio nasal. Por ser um anti-histamínico, a clorfeniramina é bastante utilizada devido à sua capacidade de promover a vasoconstrição que, aliada à fenilefrina, diminui o desconforto do congestionamento nasal e reduz a coriza. Por apresentarem boas características farmacológicas simultâneas, paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina são vastamente empregados, de forma simultânea, em preparações farmacêuticas antigripais. Juntos, eles proporcionam uma cobertura sintomática ampla contra os efeitos gripais.² Os métodos recomendados para a quantificação de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, pela Farmacopeia Americana (USP) são a espectrofotometria no UV-Vis e a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).³

Técnicas eletroanalíticas apresentam-se como alternativas bastante atrativas, devido ao seu menor custo para aquisição e manutenção instrumental e obtenção dos resultados em menor tempo. A literatura apresenta um número significativo de trabalhos utilizando-se técnicas eletroanalíticas na determinação simultânea e sequencial de ativos em fármacos.^{4,5,6,7} Dentre as técnicas eletroanalíticas, a voltametria de varredura linear e de pulso diferencial são as mais utilizadas para a quantificação de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina em fármacos.^{8,9}

Neste sentido, foram avaliados neste trabalho diferentes tipos de eletrodos alótropos do carbono, bem como parâmetros iniciais de análise, para a quantificação de

paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, em amostras comerciais farmacêuticas antigripais, em potenciostato/galvanostato, utilizando-se água como único solvente, com posterior avaliação da veracidade dos dados, comparando-se os resultados obtidos com o valor apresentado nos rótulos das amostras comerciais, definindo quais os melhores eletrodos a serem utilizados neste tipo de solução, bem como a viabilidade de determinação simultânea ou sequencial dos analitos acima citados, utilizando as técnicas de voltametria de varredura linear e voltametria de pulso diferencial. Ao final, uma avaliação de custos foi apresentada, a fim de corroborar com o emprego da voltametria como alternativa na quantificação de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina em preparações farmacêuticas antigripais, técnica que proporciona obtenção de resultados em menor tempo, com uso de solventes não tóxicos e com investimento financeiro menor, tanto para a aquisição dos equipamentos e consumíveis, como para a manutenção dos mesmos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Paracetamol

A utilização de analgésicos naturais para o alívio das dores surgiu nos primórdios da história escrita (3000 a.C) e para este fim recorria-se ao uso de algumas plantas. Posteriormente, o rápido avanço dos conhecimentos fitoquímicos levou à descoberta e ao desenvolvimento dos analgésicos que conhecemos hoje.¹⁰

A acetanilida é o composto original deste grupo de drogas medicinais. Ela foi introduzida na prática médica em 1886, sob o nome de antifebrina por CAHN, que de forma acidental, descobriu sua ação antipirética. Entretanto, a acetanilida demonstrou ser bastante tóxica. Em busca de compostos menos tóxicos, procurou-se uma alternativa, com a administração do p-aminofenol, na crença de que o organismo oxidava a acetanilida a esse composto. Contudo, a toxicidade não foi reduzida e diversos derivados químicos do p-aminofenol passaram a ser foco de testes. Um dos mais satisfatórios entre eles, a fenacetina (acetifetidina), que foi introduzida na área terapêutica em 1887, sendo empregada de forma ampla em misturas analgésicas, até ser implicada na nefropatia do abuso dos analgésicos.¹¹

O paracetamol (PAR) (acetaminofeno, N-acetil-p-aminofenol) (Figura 1) é um pó cristalino ou cristal branco inodoro, moderadamente solúvel em água (1 g por 70 mL a 25°C) e apresenta uma grande estabilidade em solução aquosa entre pH 5 e 7.¹² Apenas em 1893, o paracetamol foi introduzido na prática clínica por Von Mering, sendo utilizado de forma extensa, somente a partir de 1949, quando Brodie e Axelrod o identificaram como principal metabólito ativo, tanto da fenacetina quanto da acetanilida, ambos com ação analgésico-antipirética.¹¹

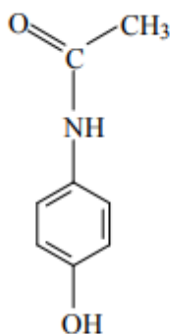


Figura 1. Estrutura química do paracetamol.¹¹

Desde esta época, o paracetamol tem sido utilizado como ingrediente ativo para uma vasta série de produtos farmacêuticos, sob diferentes formas de dosagem, agindo de forma individual ou associado a outros ativos, como a cafeína.¹¹ Atualmente, ele é um dos medicamentos mais utilizados para alívio das dores crônicas, sendo considerado o analgésico mais utilizado dentre os disponíveis no mercado.¹³ Este fármaco vem substituindo a Aspirina® (AAS), já que possui propriedades analgésica e antipirética semelhantes, sendo principalmente utilizado por pessoas que apresentam sensibilidade ao AAS.^{11,14}

Outra vantagem do paracetamol é que ele apresenta menos efeitos colaterais em relação ao AAS, não causando aumento da acidez estomacal em pessoas portadoras de úlcera péptica e, em geral, por pessoas que sofram de asma.^{11,14} Em caso de intoxicação aguda por paracetamol, o efeito mais sério é a necrose hepática, podendo chegar a níveis fatais. O paciente pode apresentar um quadro de náuseas, vômitos e dores abdominais. Essa toxicidade deve-se à oxidação do grupamento amino do paracetamol, formando o hidroxiaceminofenol, seguido pela formação do N-acetil-p-benzoquinona imina (NAPQI).⁴ Essa substância é altamente eletrofílica e pode facilmente oxidar grupamentos tióis das proteínas, sofrendo assim um ciclo redox com a formação de ânions superóxidos por meio da redução com oxigênio.¹⁵ Essa etapa de redução acaba produzindo peróxidos e, por fim, radicais hidroxilas ($\bullet\text{OH}$) implicando no stress oxidativo celular.¹³

A dose máxima de ingestão recomendada do paracetamol é de 0,5 g à 4,0 g por dia para adultos e 200 mg/Kg para crianças de até 12 anos. A dose tóxica está em torno de 7,5 g/dia, sendo a diferença entre a dose terapêutica e a tóxica pequena e, por isso, é necessário o controle de sua administração.¹⁶

2.2 Cloridrato de fenilefrina

A fenilefrina (FEN) é uma droga sintética que difere-se quimicamente da epinefrina pela ausência do grupo hidroxila na posição 4 do anel benzeno (Figura 2).¹¹ O cloridrato de fenilefrina é um sal do isômero derivado sinteticamente da feniletilamina. Trata-se de um composto branco, cristalino, não-higroscópico, bastante solúvel em água e em álcool e que possui um ponto de fusão entre 138 a 142° C.¹⁷ Por ser um vasoconstritor, ele é bastante utilizado como um descongestionante nasal tópico e sistêmico, agindo como agonista nos receptores α -adrenérgicos na mucosa do trato

respiratório, produzindo vasoconstrição, que temporariamente reduz o edema associado com inflamação da mucosa nasal, proporcionando melhor respiração¹⁶ e apresenta pouco ou nenhum efeito β -adrenérfico.¹⁸

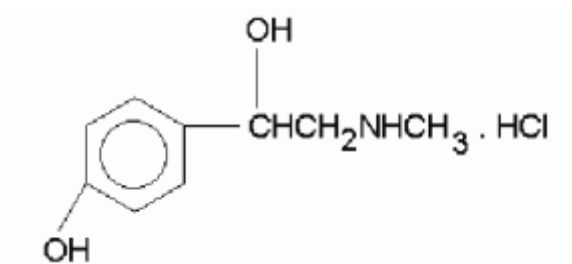


Figura 2. Estrutura química do cloridrato de fenilefrina.¹⁸

A fenilefrina também é bastante utilizada no tratamento da hipotensão, em insuficiência vascular e em casos selecionados de taquicardia supraventricular. Ele, também, pode ser aplicado como anestésico loco-regional.¹¹ A sua eliminação é renal e a droga em geral é bem tolerada, sendo que os efeitos sobre o sistema nervoso central e o sistema cardiovascular são mínimos em suas doses terapêuticas (4 mg a 10 mg por dose).¹⁶

2.3 Maleato de Clorfeniramina

A clorfeniramina, (CLOR) nome usual da 3-(4-clorofenil)-N,N-dimetil-3-piridin-2-il-propan-1-amina (Figura 3), é um anti-histamínico clássico que bloqueia de forma reversível, competitiva e seletiva os receptores H_1 , por serem estruturalmente semelhantes à histamina. Os anti-histamínicos são utilizados em preparações para o tratamento de alergias e infecções respiratórias, rinites, prurido e erupções cutâneas.¹⁹

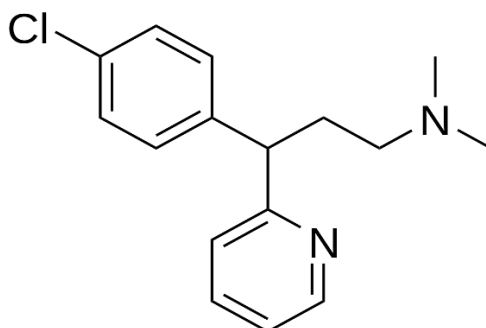


Figura 3. Estrutura química do maleato de clorfeniramina.¹⁹

A histamina está presente em várias células, incluindo neurônios, células parietais da mucosa gástrica, mastócitos e basófilos, e exerce seus efeitos nas doenças alérgicas através da ação em quatro tipos de receptores: H₁, que está presente nos neutrófilos, eosinófilos, hepatócitos, células epiteliais, no músculo liso vascular, entre outros tecidos; o H₂ que se encontra nos monócitos, células neurais, músculo liso vascular e vias aéreas; o H₃ que se encontra nos neurônios histaminérgicos e o H₄ que encontra-se na medula óssea, fibroblastos, baço e pulmão.¹⁹

Os anti-histamínicos são classificados segundo o receptor com o qual interagem, sendo aqueles que atuam de forma preferencial no receptor H₁, chamados anti-H₁. Os anti-H₁ estão entre os fármacos mais prescritos no mundo e, embora apresentem eficácia semelhante no tratamento de pacientes com rinoconjuntivite alérgica, urticária e outras doenças alérgicas, diferem de forma importante quanto à sua estrutura química, farmacologia clínica e potencial de toxicidade e vem apresentando uma grande evolução desde sua descoberta em 1937.²⁰

O maleato de clorfeniramina é um anti-histamínico derivado da pirilamina, sua ação direta sobre os receptores promove vasoconstrição, levando ao descongestionamento nasal e à redução da coriza. Sua utilização em formulações para o tratamento sintomático da gripe está ligada à sua ação anticolinérgica fraca, capaz de reduzir a secreção das glândulas mucosas do trato respiratório, melhorando assim a rinorréia, possuindo também fraca ação sedativa e antitussígena.¹⁶

Os primeiros anti-histamínicos, conhecidos como clássicos ou de primeira geração, foram produzidos na pesquisa de neurofarmacologia e possuíam grandes efeitos neuropsicológicos devido à sua habilidade em penetrar a barreira hematoencefálica e pela sua não seletividade como antagonista de receptor da histamina, resultando em sonolência e efeitos adversos anticolinérgicos, antidopaminérgicos e antisserotoninérgicos. Na fase inicial de seu desenvolvimento, a pesquisa para novos anti-histamínicos levou à descoberta de antidepressivos tricíclicos e fenotiazídicos. Entre os primeiros anti-histamínicos destacam-se a difenidramina, tripelenamina, clorfeniramina e prometazina. Estas moléculas possuem efeitos colaterais em comum, como sonolência, sedação e fadiga, que promovem a redução das funções cognitivas, de memória e no desempenho psicomotor. Os efeitos anti-histamínicos no sistema nervoso central são os principais responsáveis pela toxicidade com potencial risco de vida desses

agentes de primeira geração quando da superdosagem, os quais já eram descritos logo após sua introdução no uso clínico.²¹

Os anti-histamínicos de primeira geração, como a clorfeniramina têm ação sedante quando utilizados em doses adequadas por via sistêmica (4 mg a cada 8 horas), mas em alguns pacientes pode levar à estimulação do SNC, com sintomas de euforia e agitação.¹⁶

2.4 Características farmacológicas simultâneas

O paracetamol, maleato de clorfeniramina e cloridrato de fenilefrina são comumente empregados, de forma simultânea em preparações farmacêuticas, pois, em conjunto, prestam uma cobertura sintomática ampla contra os efeitos de gripes e resfriados, cuja ação farmacodinâmica e segurança são conhecidas e estabelecidas.¹⁶

As infecções respiratórias agudas são altamente prevalentes na população, sendo a gripe comum e a síndrome gripal, do tipo *Influenza*, as mais comumente encontradas na prática médica. Os sintomas alcançam sua intensidade máxima em dois a três dias, e têm uma duração média de 7 a 10 dias. Como têm uma etiologia viral, o tratamento sintomático é a recomendação padrão.¹⁶

Uma análise realizada pela Cochrane Brasil[®] avaliou o tratamento sintomático da gripe comum, demonstrando que existem evidências indicando que a tripla combinação de um analgésico, um anti-histamínico e um descongestionante proporciona benefícios para adultos e crianças mais velhas em comparação com placebos. O efeito global reportado com o tratamento ativo foi de 52% e com o placebo de 34%. A eficácia sintomatológica da combinação de paracetamol, maleato de clorfeniramina e cloridrato de fenilefrina (400 mg, 4 mg e 4 mg, respectivamente), no tratamento do resfriado comum ou da síndrome gripal, foi confirmada através de estudo randomizado, duplo-cego, controlado com placebo, realizado com 146 pacientes. O número médio de dias com sintomas observado no grupo com tratamento ativo foi de $5,9 \pm 3,4$ dias e de $7,5 \pm 5,3$ no grupo placebo. A análise de variância (ANOVA) demonstrou que, nos 11 intervalos de dose (que correspondeu a 52 horas de tratamento), houve redução estatística significativa maior do escore de sintomas no grupo com o medicamento em relação ao placebo. A mesma comparação realizada envolvendo 13 intervalos de dose (que correspondeu a 66 horas de tratamento) demonstrou ainda significância estatística

favorável ao grupo que utilizou o medicamento. O tratamento ativo também reduziu a frequência do uso de medicamentos de resgate em comparação com o placebo.¹⁶

2.5 Métodos para a determinação de paracetamol, cloridrato de fenilefrina e maleato de clorfeniramina

Muitos métodos para a determinação de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina têm sido descritos na literatura, como cromatográficos,^{22,23,24,25,26} espectrofluorimétricos,^{27,28,29,30} quimioluminescentes^{31,32} e espectrofotométricos.^{33,34}

Os métodos recomendados pela Farmacopeia Americana são a espectrofotometria no UV-VIS e a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detecção espectrofotométrica.³ Existem diversos relatos na literatura de procedimentos eletroquímicos para a quantificação de paracetamol em variados tipos de amostras.^{35,36,37} O comportamento eletroquímico do paracetamol e sua determinação por voltametria de pulso diferencial utilizando eletrodo de carbono com líquido iônico (CILE) em comparação a um eletrodo de pasta de carbono tradicional (TCPE) foi estudado por Shangan *et al.*³⁸ Goyal *et al* apresentaram a determinação voltamétrica de paracetamol, utilizando um eletrodo de carbono vítreo modificado com fulereno (C₆₀), determinando o ativo em formulações farmacêuticas e amostras de urina.³⁹ Wang *et al* propuseram a modificação da superfície de um eletrodo de carbono vítreo com um filme de L-cisteína para a determinação do paracetamol. A presença do filme de L-cisteína na superfície do eletrodo facilitou a transferência eletrônica, diminuiu o potencial de pico e aumentou significativamente a corrente de pico anódica.⁴⁰ O mesmo grupo preparou um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas magnéticas, usando níquel recoberto com carbono (C-Ni/GCE). O comportamento electrocatalítico do paracetamol mostrou-se bastante favorável. O C-Ni/GCE apresentou boa seletividade, sensibilidade e estabilidade, podendo ser aplicado em amostras efervescentes.⁴¹

Diversos métodos são utilizados na quantificação de cloridrato de fenilefrina, sendo os mais utilizados, envolvendo as técnicas de cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (RP-HPLC).^{42,43} Estudos utilizando métodos eletroanalíticos também são encontrados na literatura, como por exemplo o estudo reportado por Zhu e colaboradores, onde fenilefrina foi determinada em soluções fosfato, por voltametria de pulso diferencial utilizando um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas. Também em eletrodo de carbono vítreo modificado,

fenilefrina e clorprotixeno foram determinados em ácido poli-4-aminobenzeno sulfônico.^{44,45}

Vários métodos foram publicados para a determinação quantitativa de clorfeniramina, utilizando-se as técnicas de espectrofotometria,⁴⁶ cromatografia líquida de alta eficiência,^{42,47} cromatografia gasosa⁴⁸ e eletroforese capilar.⁴⁹

Lamani e colaboradores⁵⁰ relataram a determinação de clorfeniramina empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial (DPV), usando eletrodo de carbono vítreo modificado com dodecil sulfato de sódio. Estudos realizados com a técnica de voltametria cíclica apresentaram pico de oxidação irreversível em + 0,85 V. Utilizando-se a técnica de DPV, o método proposto apresentou resposta linear entre $8,0 \times 10^{-6}$ e $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $1,7 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹.

Os mecanismos de oxidação do paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, por DPV, envolvidos nas reações eletroquímicas de ambos os analitos estão descritos a seguir.

2.6 Mecanismo de oxidação do paracetamol

A reação de oxidação do paracetamol (Figura 4) em eletrodo de pasta de carbono utilizando voltametria cíclica foi proposta por Van Benschoten *et al* e é bastante aceita na literatura atualmente. No mecanismo proposto, observou-se que a molécula de paracetamol (I) é eletroquimicamente oxidada em um processo que envolve a perda de dois elétrons e dois prótons, produzindo uma espécie intermediária N-acetil-p-quinoneimina (II). Em pH maior ou igual à 6, a espécie (II) é estável na forma desprotonada. Em soluções ácidas, essa substância é imediatamente protonada, produzindo a espécie (III), menos estável, porém, eletroquimicamente ativa, produzindo, rapidamente, a forma hidratada (IV), que é eletroquimicamente inativa e converte-se a benzoquinona.⁵¹

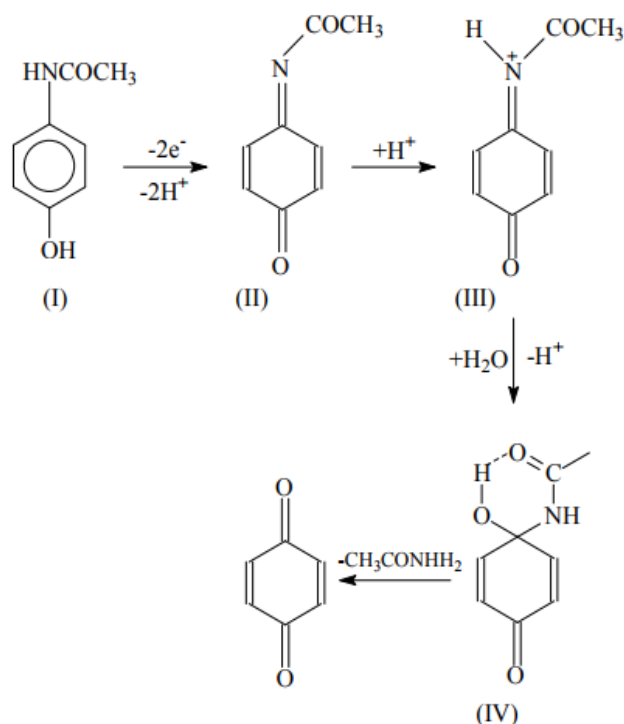


Figura 4. Mecanismo proposto de oxidação eletroquímica do paracetamol.⁵¹

2.7 Mecanismo de oxidação da fenilefrina

Zhou *et al* relataram a reação de oxidação da fenilefrina, utilizando-se eletrodo de carbono grafite e eletrodo de nanotubos de carbono de parede múltipla, por voltametria cíclica. Na presença de tampão fosfato de pH 6,45, uma solução de fenilefrina 5×10^{-5} mol L⁻¹ teve seu comportamento estudado, com velocidade de varredura crescente entre 50 e 800 mV s⁻¹, utilizando-se 10 s de deposição.⁵²

É possível observar que molécula de fenilefrina é oxidada pela perda de um elétron e um próton, demonstrando-se estável desprotonada, próximo a pH neutro.

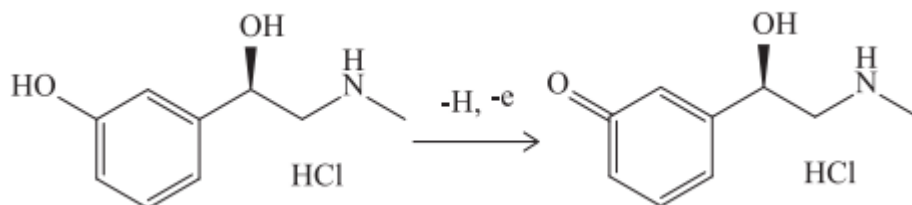


Figura 5. Mecanismo proposto de oxidação da molécula de fenilefrina.⁵²

2.8 Mecanismo de oxidação da clorfeniramina

Utilizando-se eletrodo de pasta de carbono, a oxidação voltamétrica da clorfeniramina foi estudada por Shekappa *et al*, na presença de dodecilsulfato de sódio, por voltametria cíclica e de pulso diferencial. Considerando-se que a molécula de clorfeniramina contém uma amina terciária alifática em sua estrutura, esta apresenta maior probabilidade de perda de elétron. A clorfeniramina perde, então, um elétron da amina terciária alifática, para formar um radical cátion, que, ao perder um próton e um elétron em subseqüentes etapas, resulta em uma base quaternária de Schiff. Essa base é rapidamente hidrolisada na molécula 5-cloro-2-(metilamino) benzofenona e dimetilamina.⁵⁰

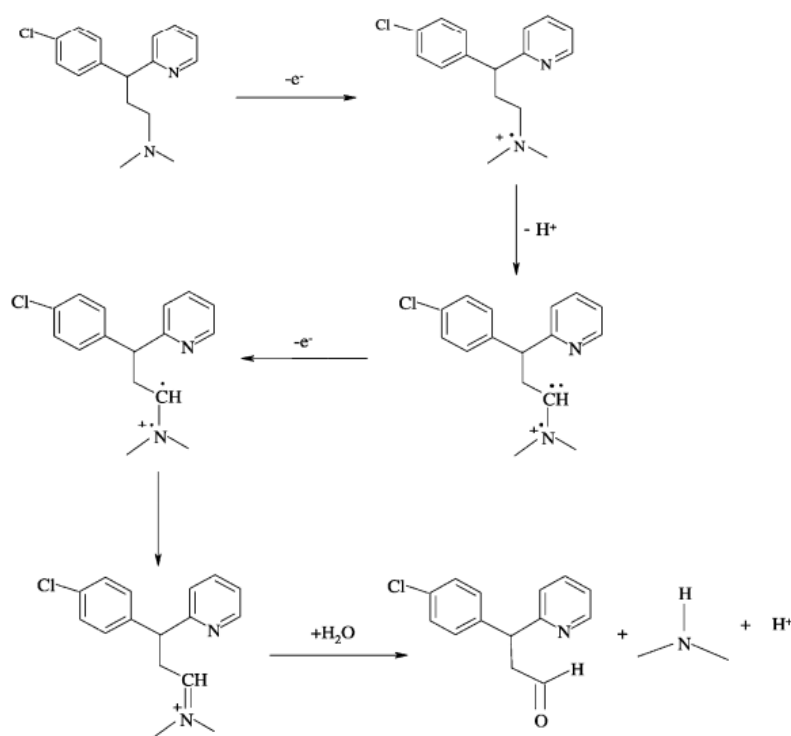


Figura 6. Mecanismo proposto de oxidação do maleato de clorfeniramina.⁵⁰

2.9 Determinação simultânea e sequencial de princípios ativos por técnicas eletroanalíticas

O desenvolvimento de novos métodos analíticos que quantificam simultânea ou sequencialmente mais de um analito na amostra está em evidência na química analítica. Em relação a isso, alguns métodos de separação clássicos, como HPLC e GC são vastamente utilizados. Entretanto, trata-se de técnicas com alto custo, tanto na aquisição

dos equipamentos e materiais, quanto na operação e manutenção. Separações utilizando eletroforese capilar demonstraram vantagens em relação ao custo de operação e manutenção, mas pecam no custo de aquisição do equipamento, que se equipara às técnicas cromatográficas.

A literatura apresenta uma vasta gama de trabalhos utilizando diferentes técnicas eletroanalíticas na determinação simultânea de compostos orgânicos, técnicas estas, que geralmente são mais simples, de baixo custo e de fácil tratamento dos resultados como as técnicas envolvendo pulsos de potenciais. Lourenção *et al* relataram o desenvolvimento de um método eletroanalítico simples e altamente seletivo, para a quantificação de paracetamol e cafeína, em meio aquoso, utilizando-se um eletrodo de diamante dopado com boro.⁴ Os princípios ativos dos fármacos utilizados para tratamento da tuberculose, isoniazida e rifampicina foram determinados simultaneamente por DPV, utilizando-se eletrodo gotejante de mercúrio.⁵³ Paracetamol e ibuprofeno foram determinados simultaneamente em amostras farmacêuticas, também por voltametria de pulso diferencial.⁵⁴ Além do mais, paracetamol, cafeína e orfenadrina, foram determinados em formulações farmacêuticas por voltametria de onda quadrada (SWV), utilizando-se eletrodo de carbono dopado com boro.⁵ Igualmente por SWV, codeína e paracetamol contidos em fluídos corporais e farmacêuticos foram determinados com eletrodo de diamante dopado com boro.⁵⁵

2.9.1 Voltametria Cíclica

Voltametria cíclica é a técnica mais utilizada para a aquisição qualitativa de informações sobre reações eletroquímicas. É, na maioria das vezes, a primeira experiência realizada em um estudo eletroanalítico. Particularmente, ela oferece uma localização rápida de potenciais redox das espécies eletroativas.

Na voltametria cíclica, o potencial aplicado ao eletrodo de trabalho varia partindo de um valor inicial E_i , até um valor limite pré-determinado, E_v . Ao alcançar E_v , a direção da varredura é invertida e um caminho inverso é percorrido até chegar a E_f , que pode ser o valor do potencial inicial E_i ou outro valor de potencial pré-estabelecido.^{40,56}

2.9.2 Voltametria de varredura linear

Na voltametria de varredura linear, o potencial aplicado no eletrodo de trabalho através de uma fonte de tensão varia linearmente com o tempo. A corrente elétrica que circula entre os eletrodos de trabalho, o contra-eletrodo e a solução, como consequência da transferência de elétrons entre o eletrodo e os componentes da solução, é registrada em função do potencial aplicado.

Uma das suas principais limitações em relação à sensibilidade é a chamada corrente capacitiva, que é um dos principais componentes da corrente residual. O valor da corrente faradaica residual (I_f) diminui mais lentamente que o da corrente capacitiva (I_c), permitindo uma medição discriminatória entre elas.⁵⁷

A corrente capacitiva tem grande contribuição na linha base e surge devido a fenômenos relacionados à dupla camada elétrica. Quando um potencial é aplicado a um eletrodo, ele adquire uma carga semelhante a um condensador, devido ao carregamento e descarregamento da dupla camada elétrica. Como em voltametria é utilizada a varredura de potencial, a cada etapa de potencial que é aplicado o eletrodo apresentará esse carregamento e descarregamento da dupla camada, desenvolvendo uma corrente, que, devido a isso, é chamada de corrente capacitiva ou de condensador. A outra componente da corrente residual é uma corrente do tipo faradaica, que ocorre devido a impurezas presentes no eletrólito suporte, em outros reagentes utilizados e ao oxigênio dissolvido (oxirredução). Essa corrente pode ser reduzida ou até mesmo eliminada utilizando-se reagentes mais puros e removendo o oxigênio do meio reacional.⁵⁷

Com o avanço das pesquisas, a sensibilidade da técnica foi melhorada, visto que a principal componente da corrente residual que limite a mesma é a corrente capacitiva. Portanto, o baixo limite de detecção da voltametria linear fica devido a corrente faradaica, a corrente devido à reação no eletrodo da substância a ser determinada, que é da mesma ordem ou menor do que a corrente capacitiva quando a sua concentração atinge valores da ordem de 10^{-4} a 10^{-5} mol L⁻¹, não sendo então mais possível distingui-la da corrente de fundo. Dessa forma, a discriminação dessas correntes permite melhorar a sensibilidade da técnica.⁵⁷

2.9.3 Voltametria de pulso diferencial

Junto a voltametria de pulso diferencial, são aplicados, ao eletrodo de trabalho, pulsos de amplitude fixos sobrepostos a uma rampa de potencial crescente.⁸ É

necessária, primeiramente, a escolha de um potencial inicial, e em seguida, pequenos pulsos com amplitude crescente são aplicados. Os pulsos duram geralmente de 5 a 100 ms, sendo que a corrente é medida antes e ao final da aplicação do pulso.⁹ A primeira corrente é instrumentalmente subtraída da segunda, e a diferença das correntes é plotada versus o potencial que foi aplicado.⁸ O pulso de potencial aplicado deve ter seu incremento constante e igual ao potencial da base (E_{base}).⁹

O voltamograma resultante consiste de picos de corrente de forma gaussiana, cuja área de pico é diretamente proporcional à concentração do analito de interesse.⁸

O objetivo de se fazer duas medidas da corrente e trabalhar com a diferença entre elas é a correção da corrente capacitiva. À medida que se aplica o pulso, ocorre um aumento da contribuição da corrente capacitiva e da corrente faradaica (Figura 1.7). Entretanto, a corrente capacitiva diminui de forma exponencial, enquanto a corrente faradaica diminui linearmente. Dessa forma, escolhendo-se um tempo apropriado para se fazer a segunda leitura, tem-se a medida da corrente total a um valor de corrente onde a contribuição da corrente capacitiva (não faradaica) pode ser desconsiderada. Desvinculando-se o valor de corrente da primeira leitura da segunda, obtém-se uma minimização da contribuição da corrente de fundo. Com essa correção, é possível obter-se limites de detecção da ordem de 10^{-8} mol L⁻¹.⁸

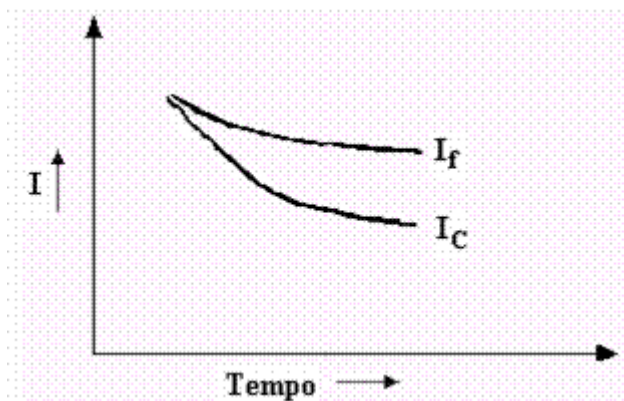


Figura 7. Variação da corrente em função do tempo.⁵⁷

2.10 Eletrodos alótropos do carbono

O carbono é um elemento que pode ser encontrado sob variadas formas e com propriedades distintas. Para que se estabeleçam as ligações covalentes que resultaram nessas formas, é necessário que a hibridização dos orbitais do carbono elementar

aconteça. A partir dessa hibridização, em cada um dos casos, é possível entender as propriedades das variedades alotrópicas e seus arranjos estruturais.⁵⁸

Materiais constituídos em sua essência por átomos de carbono, conhecidos como materiais carbonosos, recebem destaque, pois o carbono pode ligar-se indefinidamente consigo mesmo. A partir disso, o mesmo é capaz de assumir combinações estruturais variadas, mediante determinadas condições de processo. A classe dos materiais carbonosos é composta pelos carbonos poliméricos, como o carbono vítreo, a fibra de carbono e o negro de fumo. Os carbonos anisotrópicos são representados pelos grafites e coques, e ainda, os carbonos mais modernos, formados pelos compósitos de carbono reforçados com fibras de carbono, carbonos tipo diamante, diamantes sintéticos e ainda os nanotubos.⁵⁹

2.10.1 Eletrodo de carbono vítreo

O carbono vítreo possui características semelhantes ao vidro doméstico, por apresentar superfície com aspecto brilhante quando polido.⁶⁰ Sua fratura é do tipo conchoidal, um tipo de quebra onde os corpos cristalinos após a fratura não apresentam ordenação em uma única direção.

Dentre as suas propriedades, destacam-se os altos valores de condutividade térmica e elétrica, estabilidade térmica, elevado módulo de elasticidade, alta dureza e ainda, característica intrínseca ao vidro, como a impermeabilidade a gás.⁶⁰ No processo de produção do carbono vítreo ocorre a formação de ligações cruzadas entre os planos que o compõem. Uma estrutura complexa desse material é obtida, através das ligações carbono-carbono, que apresenta aspecto rígido e amorfo.⁶¹

2.10.2 Eletrodo de poli-L-ácido láctico com sal imidazol ligado covalentemente, modificado com óxido de grafeno reduzido

Os termoplásticos à base de poliolefina são os polímeros mais amplamente utilizados em nossa sociedade e são materiais difundidos em todos os aspectos de nossa vida cotidiana. Em geral, esses polímeros são feitos de olefinas derivadas do petróleo, sendo produzidas pelas fontes térmicas de decomposição de hidrocarbonetos pesados no craqueamento catalítico a vapor.⁶²

O poli (ácido láctico) (PLA) é um termoplástico biodegradável de poliéster, derivado do ácido láctico, proveniente de recurso renovável, que apresenta várias

aplicações na área biomédica e como commodities de embalagem. Devido ao esgotamento dos recursos fósseis, esse material também é considerado uma alternativa aos produtos petroquímicos derivados das poliolefinas. Nesse contexto, a polimerização da abertura do anel (ROP) do lactídeo por catalisadores baseados em metais bem definidos, obteve atenção considerável ao acesso a materiais de PLA controlados e com propriedades possivelmente melhoradas.⁶³

Recentemente, óxido de grafeno reduzido (rGO) foi aplicado como iniciador de polimerização de abertura de anel na molécula de PLA, formando nanocompósitos de poli-L-ácido láctico (PLLA), com sal imidazol ligado de forma covalente (IS). O sal imidazol é bastante utilizado na fabricação de nanocompósitos devido suas características surfactantes, pela presença de um cátion e um ânion em sua estrutura, trabalhando como agentes eletrolíticos.^{64,65,66,67,68}

2.10.3 Eletrodos impressos

Se, por um lado as infinitas possibilidades de modificação de eletrodos sólidos permitem visualizar o desenvolvimento dos mais variados sensores para atender à crescente demanda, principalmente nas áreas médica, industrial e ambiental,⁶⁸ por outro lado, a regeneração da superfície após o uso é o maior empecilho para o desenvolvimento de eletrodos sólidos comerciais. A solução para o problema seria o desenvolvimento de eletrodos descartáveis, que eliminaria a necessidade de regeneração de superfície. Para este fim, o desenvolvimento de membranas descartáveis e eletrodos de pasta de carbono se apresentaram como alternativas nas últimas décadas. No entanto, algumas limitações destas tecnologias, como as que são relacionadas à lixiviação de componentes da pasta de carbono modificada, com conseqüente perda da atividade e estabilidade do sensor, e a forma artesanal peculiar dos eletrodos de pasta de carbono e de membrana, desfavorecem o emprego destas tecnologias em eletrodos comerciais.⁶⁹

Os eletrodos impressos (EI) têm sido amplamente empregados como uma alternativa ao uso dos eletrodos convencionais em eletroanálise. A substituição apresenta a vantagem de oferecer sistemas mais simples, menores, com arranjo de eletrodos mais compactos e construídos sobre um único suporte, o que é adequado para o desenvolvimento de sensores portáteis. Outras vantagens no uso deste tipo de dispositivo estão associadas ao fato de serem produzidos em batelada, barateando o custo de produção e permitindo que sejam utilizados como descartáveis, o que diminui

as etapas de limpeza entre as análises e evita problemas de envenenamento da superfície do eletrodo. Diversas técnicas são utilizadas para a construção de eletrodos impressos, tais como a impressão por microcontato,⁷⁰ litografia,⁷¹ impressão por jato de tinta⁷² e serigrafia.⁷³ Além da geometria/configuração e da composição do material usado na confecção de eletrodos impressos, a escolha da técnica de preparação permite a construção de dispositivos com características particulares, que podem levar a diferentes aplicações.^{74,75,76,77}

Os componentes básicos de um EI são um suporte não condutor (vidro, plástico ou cerâmico) e uma camada condutora impressa (material condutor/aglutinante) sobre o suporte inerte. A impressão da camada condutora é realizada passando a tinta condutora através de um molde, que consiste em uma tela com a configuração do arranjo de eletrodo definida. Na maioria das vezes, essa camada é parcialmente coberta por uma segunda camada isolante, para definir uma área de contato elétrico numa extremidade e a superfície do eletrodo.^{55,8}

A tecnologia “screen-printing”, mais conhecida como “silk-screen”, tem sido empregada com grande sucesso na fabricação de eletrodos nesta última década. Ao mesmo tempo em que possibilita a produção em massa de eletrodos a um custo extremamente baixo, é simples e pode ser praticada em qualquer laboratório, sendo apropriada para a produção de eletrodos descartáveis. Um dos principais aspectos dos EI's, que os tornaram extremamente atrativos quando se busca o desenvolvimento de sensores comerciais, é a possibilidade de total automação na fabricação de um sistema completo contendo os eletrodos de trabalho, auxiliar e de referência, todos impressos no mesmo suporte. Esta característica, associada à simplicidade de elaboração e às inúmeras possibilidades de modificação dos EI's, promete colocar a técnica numa posição privilegiada entre as demais.⁶⁹

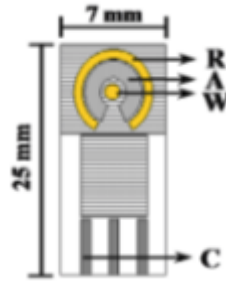


Figura 8. Modelo de eletrodo impresso em cerâmica “screen-printed”. R = Eletrodo de pseudo-referência (Ag/AgCl), A = eletrodo auxiliar (tinta de carbono ou ouro), W = eletrodo de trabalho (tinta de carbono) e C = contato elétrico.⁶⁸

3 OBJETIVO

No presente trabalho, desenvolveu-se um método de quantificação sequencial/simultânea dos princípios ativos paracetamol, cloridrato de fenilefrina e maleato de clorfeniramina, em preparações farmacêuticas antigripais comerciais, utilizando-se voltametria de varredura linear e de pulso diferencial, comparando-se eletrodos de trabalho de diferentes alótropos do carbono, tendo como único solvente a água.

3.1 Objetivos específicos

- 1) Estudar a resposta dos analitos às técnicas voltamétricas de varredura linear e pulso diferencial, bem como os parâmetros instrumentais para cada técnica;
- 2) Estudar as variáveis determinantes na quantificação dos analitos, por voltametria de varredura linear e de pulso diferencial: pH, potencial de acumulação, tempo de acumulação e velocidade de varredura;
- 3) Estudar a resposta dos analitos aos eletrodos com diferentes alótropos do carbono;
- 4) Realizar a validação do (s) método (s) para a detecção e a quantificação dos princípios ativos em fármacos comercialmente disponíveis, através das figuras de mérito precisão e linearidade, limites de detecção e quantificação e exatidão;
- 5) Aplicar os métodos otimizados para determinar as concentrações dos princípios ativos paracetamol, cloridrato de fenilefrina e maleato de clorfeniramina em amostras produzidas e comercializadas no Brasil.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

As metodologias foram desenvolvidas e as análises realizadas no Laboratório de Medidas Potenciométricas do Departamento de Química Inorgânica, na Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

4.1 Reagentes e Soluções

Todos os reagentes utilizados eram de grau ultrapuro e analítico. Água ultrapura (em sistema Milli-Q®), Millipore®, Bedford, EUA) com resistividade final de 18,2 MΩ cm foi utilizada no preparo das amostras, padrões e soluções.

Solução de cloreto de potássio, 3 mol L⁻¹ foi empregada como eletrólito suporte. Tampões fosfato foram preparados, em diferentes faixas de pH, para otimização do meio reacional. Soluções de ácido clorídrico 1 mol L⁻¹ e hidróxido de amônio 1 mol L⁻¹ foram preparadas a fim de auxiliar na obtenção das faixas de pH desejadas.

Matérias-primas certificadas pelo controle de qualidade da empresa Kley Hertz Farmacêutica S/A foram utilizadas como padrões de referência. Soluções dos padrões de paracetamol 7,3 x 10⁻² mol L⁻¹ e 7,4 x 10⁻² mol L⁻¹ (Anqiu Lu'An Pharmaceutical Co. LTD.), cloridrato de fenilefrina 4,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ e 3,6 x 10⁻³ mol L⁻¹ (Siegfried Pharma Chemikailen Minden GmbH) e maleato de clorfeniramina 2,1 x 10⁻³ mol L⁻¹ e 2,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ (Suprya Lifescience LTD.) foram preparadas em água ultrapura pesando-se uma massa adequada em balança analítica e avolumando a 50 mL, com posterior emprego de banho de ultrassom até total solubilização. O método da adição de padrão foi usado para a calibração.

Voltamogramas de varredura linear foram obtidos para o paracetamol e voltamogramas de pulso diferencial foram obtidos para a fenilefrina e para a clorfeniramina.

4.2 Instrumentação

A otimização dos parâmetros e posterior quantificação dos analitos paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina foram realizadas com um potenciostato/galvanostato (Figura 9) (Autolab, modelo PGSTAT302N, Methrom, Suíça) acoplado a um computador, para aquisição (Software GPES®) e tratamento dos dados. Durante o desenvolvimento dos métodos, utilizou-se uma célula eletroquímica com capacidade de

até 30 mL, combinada aos eletrodos impressos com suporte em cerâmica (Figura 11) (Dropsens, Suíça) contendo os eletrodos de trabalho, constituídos de tinta de carbono e modificados com nanotubos de carbono de paredes única e múltiplas (SWCNT-COOH/CSPE e MWCNT-COOH/CSPE), o contra-eletrodo, constituído igualmente por tinta de carbono (CSPE) e o eletrodo de *quasi*-referência, constituído de prata.

Para os estudos utilizando-se o eletrodo de carbono vítreo (GC) e poli-L-ácido láctico com sal imidazol ligado covalentemente, modificado com óxido de grafeno reduzido (PLLA-IS/rGO), utilizou-se uma célula eletroquímica com capacidade de até 100 mL (Figura 12), combinada aos eletrodos GC e PLLA-IS/rGO, contra-eletrodo de platina e eletrodo de referência de Ag/AgCl ($\text{KCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$).



Figura 9. Potenciostato Galvanostato Autolab, PGSTAT302N. Metrohm.

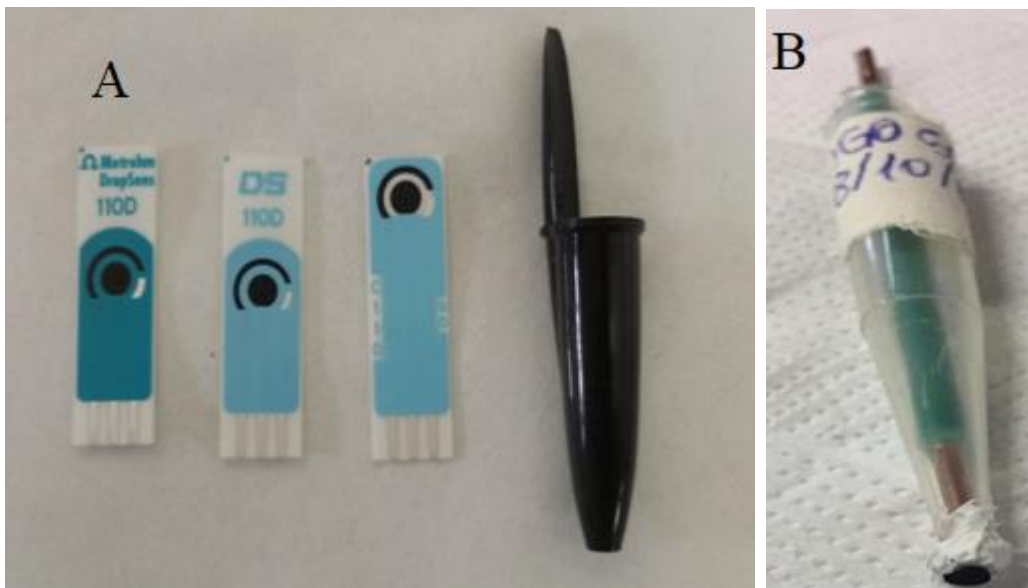


Figura 10. A) Da esquerda para a direita: Eletrodo impresso modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizado com grupos carboxílicos (MWCNT-COOH/CSPE), eletrodo impresso modificado com nanotubos de carbono de parede única funcionalizado com grupos carboxílicos (SWCNT-COOH/CSPE) e eletrodo impresso de tinta de carbono (CSPE). Comparação dimensional com uma tampa de caneta. B) Eletrodo de PLLA-IS/rGO.

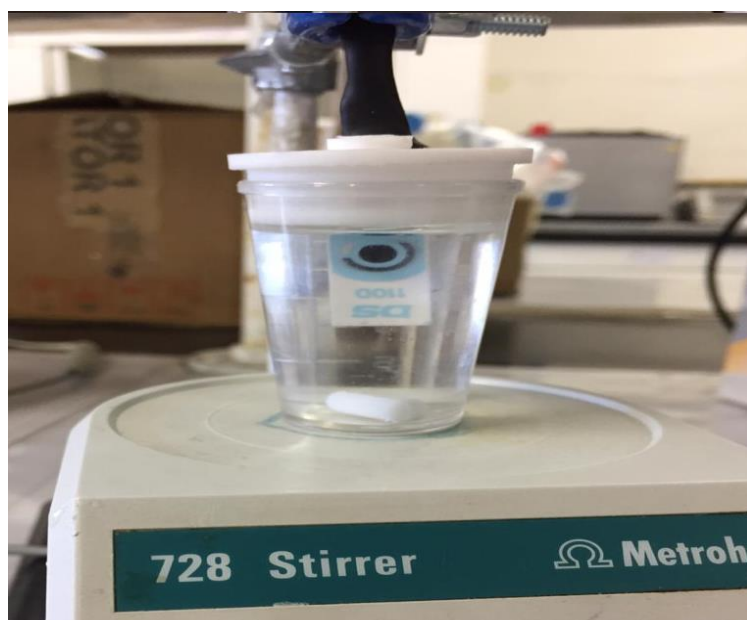


Figura 11. SWCNT-COOH/CSPE imerso em solução aquosa tamponada a pH 9, em célula eletroquímica com capacidade para 30 mL.

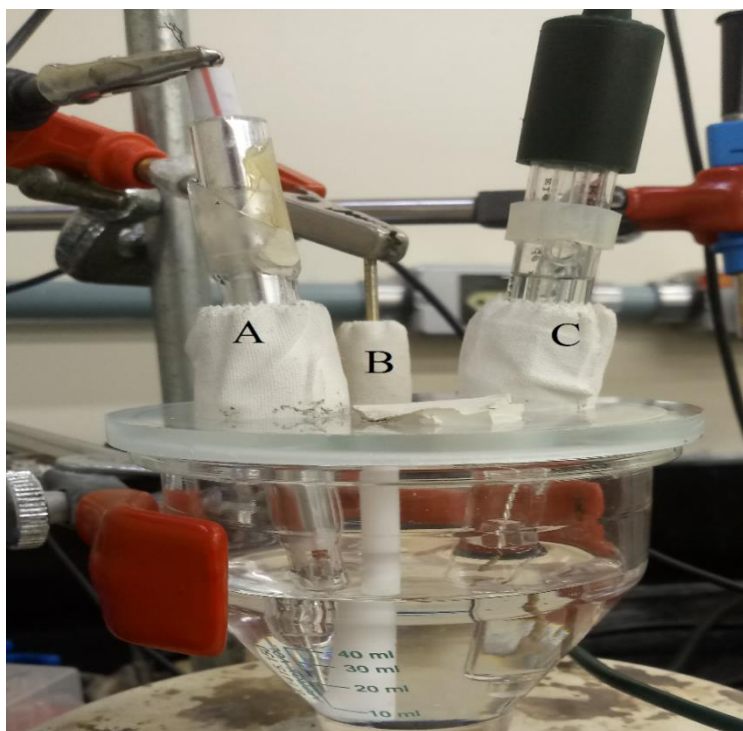


Figura 12. Célula eletroquímica com capacidade de até 100 mL, combinada ao contra-eletrodo de platina (A), eletrodo de trabalho de carbono vítreo (GC) (B) e eletrodo de referência de Ag/AgCl ($\text{KCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$) (C).

4.3 Metodologia

Foram investigados neste trabalho a voltametria de varredura linear (LV), a voltametria de pulso diferencial (DPV) e a voltametria cíclica (CV).

4.3.1 Voltametria de pulso diferencial (DPV), voltametria de varredura linear (LV) e voltametria cíclica (CV)

Os estudos preliminares foram realizados com o eletrodo impresso de tinta de carbono (CSPE), por DPV. A LV também foi avaliada, afim de verificar sua eficiência na detecção dos analitos. A técnica de CV foi utilizada para o estudo da reversibilidade das reações eletroquímicas em questão e, também, para o cleanup da superfície do eletrodo de trabalho, previamente a cada medida.

As técnicas de voltametria de pulso diferencial e voltametria de varredura linear foram utilizadas nos métodos propostos para determinar, em alguns casos, simultaneamente, o maleato de clorfeniramina e cloridrato de fenilefrina, e

sequencialmente o paracetamol, em formulações farmacêuticas nos parâmetros devidamente estudados previamente.

4.4 Amostras

Quatro amostras comerciais foram utilizadas durante o estudo, sendo obtidas no comércio local (farmácias de Porto Alegre, Rio Grande do Sul). De forma geral, todo o conteúdo de cada amostra sólida efervescente em sachê (aproximadamente 5 gramas) foi pesado e, posteriormente, dissolvido em 50 mL de água ultrapura, havendo posterior filtração da amostra, com filtro de acetato de celulose de 0,20 μm de diâmetro de poro, lavagem com água ultrapura. Em seguida, completou-se o volume, com água ultrapura, em balão volumétrico de 100 mL. Para as amostras em cápsulas, contendo paracetamol, cloridrato de fenilefrina e maleato de clorfeniramina, um *pool* (mistura de iguais quantidades de uma amostra) foi preparado com 20 cápsulas, sendo pesadas e dissolvidas em 50 mL de água ultrapura. As amostras, então, foram filtradas com filtro de acetato de celulose de 0,20 μm de diâmetro de poro, lavadas com água ultrapura e avolumadas em balão volumétrico de 100 mL com água ultrapura. A Tabela 1 apresenta a concentração, em mg g^{-1} para amostras comerciais em sachê e em mg compr^{-1} para amostras em comprimidos, de cada um dos princípios ativos contidos nas amostras comerciais.

Tabela 1. Concentrações (mg g^{-1} / mg compr^{-1}) de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, nas amostras comerciais estudadas.

Princípio Ativo	Concentração (mg g^{-1} / mg compr^{-1})
Paracetamol	80,0 / 400,00
Fenilefrina	0,80 / 4,00
Clorfeniramina	0,80 / 4,00

4.5 Procedimento Experimental

Para a quantificação de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, primeiramente, procedeu-se a otimização do pH ideal das soluções, potencial de acumulação, tempo de acumulação e velocidade de varredura. Em seguida, com os

parâmetros otimizados, quantificou-se o paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, sequencialmente, nos eletrodos CSPE, SWCNT-COOH/CSPE, MWCNT-COOH/CSPE e GC.

Para a obtenção dos voltamogramas utilizando os eletrodos impressos constituídos de tinta de carbono (CSPE) e eletrodos impressos de nanotubos de carbono de paredes única (SWCNT-COOH/CSPE) e múltipla (MWCNT-COOH/CSPE), alíquotas de interesse dos padrões de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, foram transferidas à célula eletroquímica contendo 10 mL de água ultrapura, KCl 3 mol L⁻¹, e tampão fosfato de pH desejado para cada estudo (ajustando-se o pH quando necessário com as soluções de ácido clorídrico 1 mol L⁻¹ e hidróxido de amônio 1 mol L⁻¹) e 1 mL da solução da amostra em análise.

Para os estudos com eletrodo de carbono vítreo e de poli-L-ácido láctico com sal imidazol ligado covalentemente, modificado com óxido de grafeno reduzido, alíquotas de interesse dos padrões de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, foram transferidas à célula eletroquímica contendo 70 mL de água ultrapura, tampão fosfato de pH desejado para cada estudo (ajustando-se o pH quando necessário com as soluções de ácido clorídrico 1 mol L⁻¹ e hidróxido de amônio 1 mol L⁻¹), e 1 mL da solução da amostra em estudo.

4.5.1 Eletrodos CSPE, SWCNT-COOH/CSPE e MWCNT-COOH/CSPE

Inicialmente, utilizando-se o eletrodo impresso de tinta de carbono (CSPE), procedeu-se com a otimização do pH da solução, para paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, utilizando-se água, tampão e alíquotas dos padrões de cada analito. Em seguida, otimizaram-se os potenciais e tempo de acumulação ideais para paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina. Por último, a velocidade de varredura foi otimizada para cada um dos analitos.

Após os estudos com o eletrodo CSPE, procedeu-se com a otimização do pH para o eletrodo impresso de tinta de carbono modificado com nanotubos de parede única (SWCNT-COOH/CSPE), devido à composição das amostras comerciais apresentarem uma grande quantidade de excipientes (ácido ascórbico, ácido cítrico, sacarina sódica, aspartamo, sacarose, aroma natural de limão, aroma idêntico ao natural de mel e fosfato de cálcio tribásico)⁸⁶ a interação dos analitos de interesse com a superfície do eletrodo

pode ser distinta. Com isso, o estudo de pH foi conduzido, adicionando-se alíquotas de amostras comerciais, sendo os resultados de pH obtidos utilizados nos demais eletrodos.

Além do pH, também otimizou-se, utilizando-se SWCNT-COOH/CSPE, os potenciais e tempos de acumulação e velocidades de varredura para cada um dos analitos, sendo esses estudos também realizados no eletrodo impresso de tinta de carbono modificado com nanotubos de paredes múltiplas (MWCNT-COOH/CSPE).

Para a aplicação do método de adição de padrão utilizando-se os eletrodos impressos, à célula eletroquímica foi adicionada água, alíquotas de tampão fosfato, alíquotas de amostras comerciais e, sequencialmente, cinco concentrações conhecidas de cada um dos padrões, separadamente, e voltamogramas de varredura linear e de pulso diferencial, respectivamente, foram obtidos para o paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina. Em seguida, curvas de regressão linear foram obtidas e a recuperação de cada um dos analitos foi calculada.

4.5.2 Eletrodos PLLA-IS/rGO e GC

A otimização dos parâmetros potencial e tempo de acumulação e velocidade de varredura também foi realizada para os eletrodos de poli-L-ácido láctico com sal imidazol ligado covalentemente, modificado com óxido de grafeno reduzido (PLLA-IS/rGO) e de carbono vítreo (GC). Como citado anteriormente, os resultados de pH otimizados para o eletrodo SWCNT-COOH/CSPE foram utilizados para os estudos nos eletrodos PLLA-IS/rGO e GC. Após a otimização dos parâmetros iniciais, igualmente aos estudos realizados nos eletrodos impressos, procedeu-se com a validação do método analítico.

Para a aplicação do método de adição de padrão para a quantificação de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, à célula eletroquímica, foi adicionada água, tampão fosfato, amostras comerciais e, sequencialmente, cinco concentrações conhecidas de cada um dos padrões, separadamente, e voltamogramas de varredura linear e de pulso diferencial foram obtidos para cada um dos analitos. Em seguida, curvas de regressão linear foram obtidas e a recuperação de cada um dos analitos foi calculada. A Figura 13 e a Tabela 2 apresentam o esquema resumindo o procedimento experimental realizado neste trabalho.

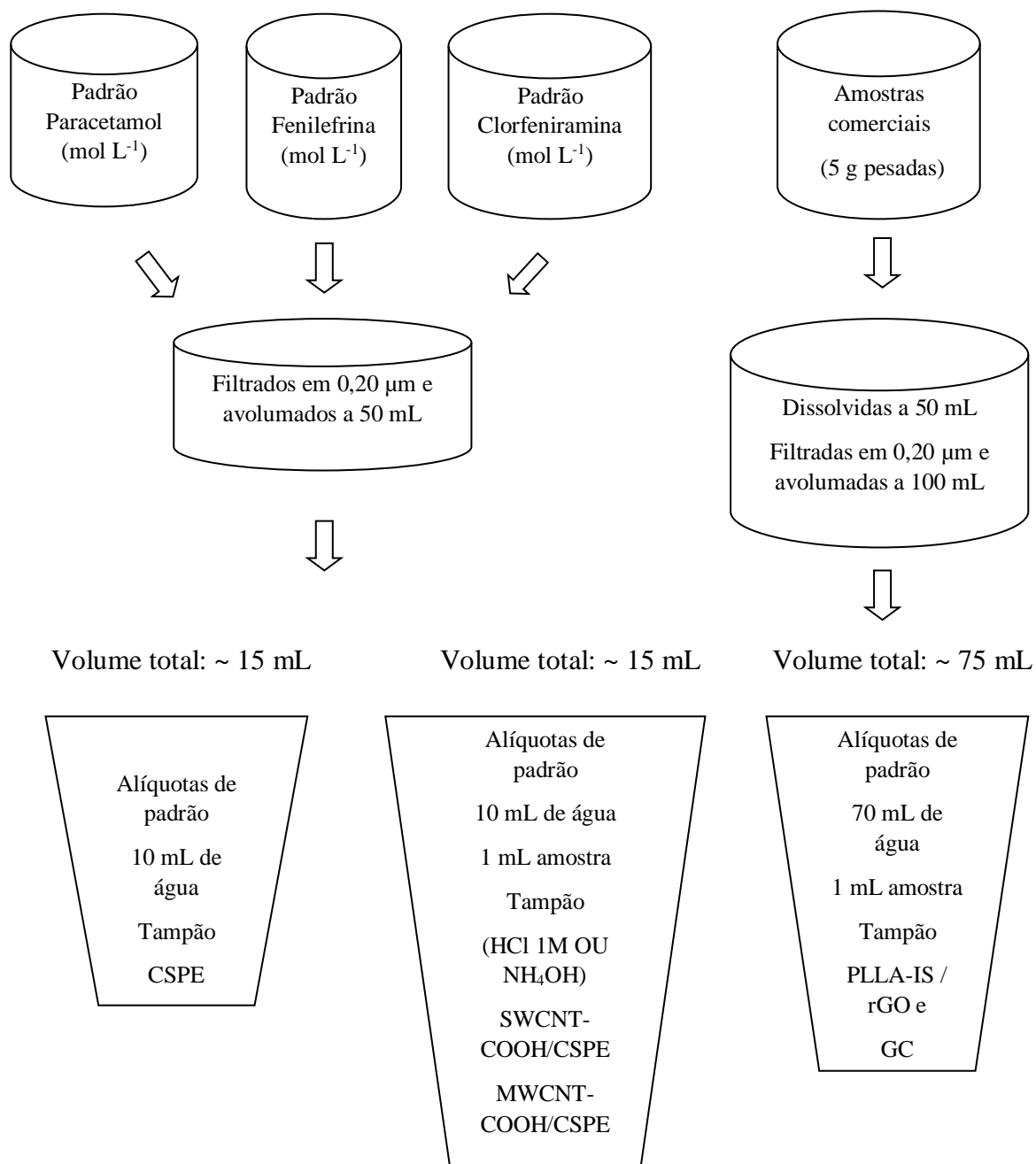


Figura 13. Esquema simplificado dos experimentos realizados para a otimização dos parâmetros e para a quantificação de paracetamol, cloridrato de fenilefrina e maleato de clorfeniramina, em formulações farmacêuticas antigripais.

Tabela 2. Parâmetros experimentais do método aplicado.

Eletrodo	CSPE*	SWCNT-COOH/CSPE*	MWCNT-COOH/CSPE*	PLLA-IS/rGO*	GC*
Volume de água (mL)		10		70	
Eletrólito suporte	KCl $2,5 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$		-	-	-
pH da solução	PAR: 1,57	PAR: 8,1	PAR: 8,1	PAR: 8,1	PAR: 8,1
	FEN: 10,66	FEN: 8,8	FEN: 8,8	FEN: 8,8	FEN: 8,8
	CLOR: 12,03	CLOR: 8,8	CLOR: 8,8	CLOR: 8,8	CLOR: 8,8
Padrão de trabalho otimização (mol L⁻¹)		PAR: $4,7 \times 10^{-4}$		PAR: $8,5 \times 10^{-5}$	
		FEN: $2,5 \times 10^{-5}$		FEN: $4,4 \times 10^{-6}$	
		CLOR: $1,6 \times 10^{-5}$		CLOR: $2,7 \times 10^{-6}$	
Adição do padrão otimização (mL)		PAR: 0,50		PAR: 0,50	
		FEN: 0,13		FEN: 0,50	
		CLOR: 0,13		CLOR: 0,50	
Padrão de trabalho método adição (mol L⁻¹)		PAR: $2,4 \times 10^{-3}$ a $1,1 \times 10^{-2}$		PAR: $5,0 \times 10^{-4}$ a $2,4 \times 10^{-2}$	
		FEN: $3,6 \times 10^{-5}$ a $1,7 \times 10^{-4}$		FEN: $2,4 \times 10^{-5}$ a $1,2 \times 10^{-4}$	
		CLOR: $1,8 \times 10^{-5}$ a $8,8 \times 10^{-5}$		CLOR: $1,3 \times 10^{-5}$ a $6,5 \times 10^{-5}$	
Potencial de acumulação (V)	PAR: - 0,15	PAR: -	PAR: -	PAR: -	PAR: -
	FEN: - 1,00	FEN: - 1,25	FEN: - 0,95	FEN: - 0,05	FEN: + 0,30
	CLOR: + 0,50	CLOR: - 1,15	CLOR: - 1,15	CLOR: - 0,95	CLOR: - 1,40
Tempo de acumulação (s)	PAR: 200	PAR: -	PAR: -	PAR: -	PAR: -
	FEN: 80	FEN: 20	FEN: 60	FEN: 60	FEN: 60
	CLOR: 10	CLOR: 10	CLOR: 60	CLOR: 60	CLOR: 30
Velocidade de varredura (V s⁻¹)	PAR: 0,11	PAR: 0,10	PAR: 0,12	PAR: 0,12	PAR: 0,01
	FEN: 0,12	FEN: 0,12	FEN: 0,09	FEN: 0,09	FEN: 0,12
	CLOR: 0,12	CLOR: 0,12	CLOR: 0,10	CLOR: 0,10	CLOR: 0,04
Potencial inicial (V)	PAR: - 0,20	PAR: - 0,20	PAR: 0,00	PAR: - 0,50	PAR: - 0,70
	FEN: + 0,45	FEN: + 0,40	FEN: + 0,55	FEN: - 0,50	FEN: + 0,40
	CLOR: - 0,10	CLOR: - 0,10	CLOR: - 0,10	CLOR: - 0,50	CLOR: + 0,60
Potencial final (V)	PAR: + 1,50	PAR: + 1,20	PAR: + 1,50	PAR: + 1,60	PAR: + 0,90
	FEN: + 0,90	FEN: + 0,90	FEN: + 0,90	FEN: + 1,60	FEN: + 0,70
	CLOR: + 0,40	CLOR: + 0,40	CLOR: + 0,30	CLOR: + 1,60	CLOR: + 1,10
Potencial de pico (V)	PAR: ~ +0,30	PAR: ~ +0,30	PAR: ~ +0,75	PAR: ~ +0,40	PAR: ~ -0,20
	FEN: ~ +0,65	FEN: ~ +0,65	FEN: ~ 0,68	FEN: ~ +0,90	FEN: ~ +0,55
	CLOR: ~ +0,15	CLOR: ~ +0,15	CLOR: ~ +0,15	CLOR: ~ +1,20	CLOR: ~ +0,87

*CSPE: eletrodo impresso de tinta de carbono; SWCNT-COOH/CSPE: eletrodo impresso de tinta de carbono modificado com nanotubos de carbono de parede única; MWCNT-COOH/CSPE: eletrodo impresso de tinta de carbono modificado com nanotubos de carbono de parede múltipla; PLLA-IS/rGO: eletrodo de poli-L-ácido láctico com sal imidazol ligado covalentemente modificado com óxido de zinco reduzido; GC: eletrodo de carbono vítreo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Otimização dos parâmetros pH, potencial de acumulação, tempo de acumulação e velocidade de varredura

Com o objetivo de obter a melhor resposta para os analitos, em termos de corrente de pico e resolução de sinal, procedeu-se o estudo, primeiramente, por voltametria de pulso diferencial, utilizando-se o eletrodo impresso de tinta de carbono (CSPE), de quatro parâmetros: pH, potencial de acumulação, tempo de acumulação e velocidade de varredura. Em seguida, utilizando-se os eletrodos impressos de nanotubos de carbono, de paredes única (SWCNT-COOH/CSPE) e múltiplas (MWCNT-COOH/CSPE) e eletrodos de poli-L-ácido láctico com sal imidazol ligado covalentemente, modificado com óxido de grafeno reduzido (PLLA-IS/rGO) e de carbono vítreo (GC), os estudos de potencial de acumulação, tempo de acumulação e velocidade de varredura foram novamente realizados. O estudo de pH foi novamente realizado para o eletrodo SWCNT-COOH/CSPE. Os resultados do estudo de pH para o eletrodo SWCNT-COOH/CSPE foram utilizados como parâmetros para os estudos no eletrodo MWCNT-COOH/CSPE e nos eletrodos PLLA-IS/RGO e GC.

5.1.1 Variação do pH

Variando-se o pH de 13 a 1, separadamente, estudou-se o comportamento do paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, primeiramente em eletrodo de tinta de carbono (CSPE). A partir disso, observou-se que cada um dos analitos comportou-se de forma distinta, dependendo do pH da solução. Levando-se em consideração o fato de as formulações farmacêuticas apresentarem uma gama elevada de excipientes, sendo esses e os próprios analitos em questão os responsáveis pelo pH da solução final, estes testes foram executados, com adição de alíquotas conhecidas da amostra, utilizando-se o eletrodo de SWCNT-COOH/CSPE. Para estes ensaios, utilizou-se potencial de acumulação de -0,45 V, tempo de acumulação de 30 segundos e velocidade de varredura de 0,10 V s⁻¹, para todos os analitos. Os resultados obtidos com o estudo de pH encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3. Resultados obtidos após a otimização do pH.

Eletrodo	Faixa de pH estudada	pH Selecionado
CSPE	12,59 – 1,56	PAR: 1,57
		FEN: 10,66
		CLOR: 12,03
SWCNT-COOH/CSPE	12,00 – 2,40	PAR: 8,10
		FEN: 8,80
		CLOR: 8,80

Através do estudo de variação do pH, observou-se que em pH abaixo de 5, os sinais da clorfeniramina foram suprimidos, indicando ausência de oxidação. O paracetamol apresentou picos em todas as faixas de pH testadas, apresentando maiores correntes de pico e melhor resolução de sinal em valores de pH mais ácidos, quando utilizado o eletrodo CSPE. Já nos estudos com o eletrodo SWCNT-COOH/CSPE, o paracetamol apresentou melhor resolução de sinal e maior corrente de pico em pH mais básicos (pH próximo à 8,00). Verificou-se neste estudo, que não seria viável utilizar a voltametria de pulso diferencial para determinar o paracetamol, já que sua concentração na célula contendo a amostra foi muito superior à dos outros analitos, e haveria a saturação do eletrodo de trabalho durante a etapa de acumulação. Devido a isso, optou-se por aplicar a técnica de voltametria de varredura linear como a ideal para a sua quantificação. Neste estudo, também foi possível observar a necessidade de se realizar a quantificação da fenilefrina e da clorfeniramina de forma sequencial, já que seus potenciais de oxidação apresentam-se muito próximos, trazendo dificuldades no momento da avaliação dos resultados. O pH que apresentou maiores valores de corrente e melhores resoluções de pico, no estudo com o eletrodo SWCNT-COOH/CSPE foi definido como pH de trabalho nos estudos posteriores com os eletrodos MWCNT-COOH/CSPE, PLLA-IS/rGO e GC.

Vale salientar, que a solução de KCl 3 mol L⁻¹, a princípio utilizada como eletrólito suporte, não mostrou melhora significativa na corrente e resolução dos picos, de modo que os estudos posteriores foram realizados na ausência da mesma.

5.1.2 Variação do potencial de acumulação

Após a otimização do pH, estudou-se o potencial de acumulação para fenilefrina e clorfeniramina na superfície do eletrodo de trabalho, previamente às determinações por voltametria de pulso diferencial. Como comentado anteriormente, a concentração do paracetamol na amostra é cerca de 100 vezes maior do que a concentração de fenilefrina e clorfeniramina, de modo que não foi necessária a etapa de acumulação para o paracetamol.

As deposições de fenilefrina e clorfeniramina foram realizadas eletroliticamente, aplicando-se um potencial constante (potencial de acumulação), durante um tempo determinado (tempo de acumulação) e sob agitação da solução. Desta forma, o transporte do analito à superfície do eletrodo acontece por difusão e é sustentado por convecção. Sob agitação, a espessura da camada de difusão diminui e mantém-se constante, não aumentando em direção ao seio da solução.⁵⁶ Essa agitação deve ser feita a velocidade constante e controlada com precisão (aproximadamente 2000 rotações por minuto).

O potencial de acumulação foi variado de $-1,40$ V à $0,65$ V, em incrementos de $0,05$ V, apresentando os resultados expostos na Tabela 4. As medidas foram realizadas já com pH otimizado, como descrito anteriormente.

Tabela 4. Resultados encontrados após otimização do potencial de acumulação.

Eletrodo	Faixa Estudada de E_a (V)	E_a Selecionado (V)
CSPE	- 1,00 – 0,50	PAR: - 0,15
		FEN: - 1,00
		CLOR: 0,50
SWCNT-COOH/CSPE	- 1,00 – 1,00	FEN: - 1,25
		CLOR: - 1,15
MWCNT-COOH/CSPE	- 1,50 – 0,50	FEN: - 0,95
		CLOR: - 1,15
PLLA-IS/rGO	- 1,40 – 0,65	FEN: - 0,05
		CLOR: - 0,95
GC	- 1,40 – 0,55	FEN: 0,30
		CLOR: - 1,40

Os potenciais de acumulação, E_a , observados em cada um dos eletrodos com diferentes alótropos do carbono foram bastante distintos. No único eletrodo em que o paracetamol foi estudado, CSPE, o potencial que apresentou maior corrente de resolução de pico foi um valor de potencial negativo. Para a fenilefrina, em todos os eletrodos estudados, potenciais negativos apresentaram a melhor resolução e maior corrente de pico, exceto para o eletrodo GC. A clorfeniramina também apresentou potencial com maior corrente de e melhor resolução de sinal negativo, exceto no eletrodo de CSPE. Como o eletrodo de PLLA-IS/rGO é fabricado artesanalmente, a unidade disposta para os estudos de otimização do método acabou sendo obsoleta, não sendo possível obter uma nova unidade à tempo da aplicação do método proposto, no eletrodo supracitado. Com isso, os seguintes voltamogramas expostos na Figura 14 têm o intuito de demonstrar a efetividade do eletrodo PLLA-IS/rGO para a quantificação de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, em amostras comerciais. A Figura 14 apresenta os voltamogramas de pulso diferencial obtidos para as variações de potencial de acumulação da fenilefrina, para $E_a = -0,05$ V e da clorfeniramina, para $E = -0,95$ V, no eletrodo PLLA-IS/rGO. A fenilefrina apresentou potencial de pico em aproximadamente 0,55 V e a clorfeniramina em aproximadamente 1,00 V.

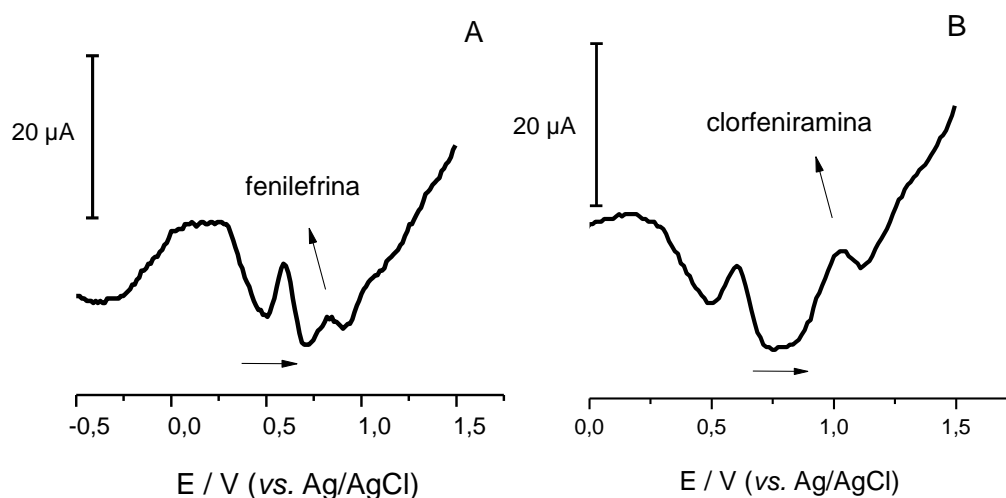


Figura 14. Voltamogramas de pulso diferencial. (A) fenilefrina, $2,4 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; $E_a = -0,05$ V. (B) clorfeniramina, $1,3 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, $E_a = -0,95$ V. Para ambos os solutos $t_a = 60$ s, $v = 0,12$ V s⁻¹ e pH = 9,00, em presença de amostra comercial. Eletrodo de trabalho PLLA-IS/rGO.

5.1.3 Variação do tempo de acumulação

O tempo de acumulação dos analitos na superfície do eletrodo de trabalho influencia diretamente a sensibilidade do método. Após a otimização do potencial de acumulação para os três analitos, estudou-se o tempo de acumulação individualmente.

Foi possível observar com o estudo da variação do tempo de acumulação que no único eletrodo estudado para o paracetamol, CSPE, a corrente de pico apresentou aumento em função do tempo de acumulação utilizado, aumentando linearmente de 15 a 16 μA , até aproximadamente 80 segundos. A partir de 80 segundos, a inclinação da curva diminuiu, mostrando que tempos maiores de acumulação não influenciaram tanto na corrente de pico e, com isso, somente para o paracetamol, houve um processo efetivo de adsorção, durante a etapa prévia de acumulação. Como mencionado anteriormente, não estudou-se o tempo de acumulação para o paracetamol nos demais eletrodos, devido à alta concentração de paracetamol na solução contendo a amostra, não sendo necessária a etapa prévia de acumulação.

Verifica-se que para a fenilefrina, em nenhum dos eletrodos de trabalho estudados houve um aumento significativo de sua corrente de pico, com o aumento do tempo de acumulação, indicando que não há adsorção deste analito na superfície do eletrodo por eletrodeposição. Pelo contrário, com o eletrodo CSPE e, principalmente com o eletrodo SWCNT-COOH/CSPE, houve um decréscimo na corrente, com o aumento do tempo de acumulação. No eletrodo de GC, houve aumento da corrente de pico com aumento do tempo de acumulação, até 60 segundos. Após, não houve aumento significativo de corrente. Vale ressaltar, que para a fenilefrina, pode não ser necessário utilizar-se tempo de acumulação para a sua determinação. No entanto, as figuras de mérito posteriormente estudadas neste trabalho foram determinadas utilizando-se os tempos de acumulação que apresentaram as maiores correntes e melhores resolução de picos para a fenilefrina, em cada um dos eletrodos estudados.

Os resultados obtidos no estudo da variação do tempo de acumulação para a clorfeniramina demonstram que, para todos os eletrodos de trabalho estudados, não houve aumento significativo de sua corrente de pico, com o aumento do tempo de acumulação. Estes dados sugerem que a clorfeniramina também não apresenta adsorção na superfície dos eletrodos estudados. Assim como a fenilefrina, houve decréscimo significativo na corrente, com o aumento do tempo de acumulação, para os eletrodos de CSPE e SWCNT-COOH/CSPE. No eletrodo GC, semelhantemente ao ocorrido com a

fenilefrina, a corrente de pico aumentou com o aumento do tempo de acumulação até 60 segundos de acumulação. Para os demais eletrodos, o aumento do tempo de acumulação não proporcionou aumento significativo de corrente de pico. Para a clorfeniramina, também não se faria necessária a utilização de tempo de adsorção durante a etapa de acumulação. Ainda assim, para a determinação das figuras de mérito posteriormente estudadas, utilizou-se tempo de acumulação que apresentou maior corrente e melhor resolução de pico para a clorfeniramina, em cada um dos eletrodos estudados.

A Tabela 5 indica as faixas de tempo de acumulação estudadas para cada eletrodo de trabalho utilizado.

Tabela 5. Resultados obtidos após otimização do tempo de acumulação.

Eletrodo	Faixa Estudada de t_a (s)	t_a Selecionado (s)
CSPE	10 – 200	PAR: 200
		FEN: 80
		CLOR: 10
SWCNT-COOH/CSPE	10 – 200	FEN: 20
		CLOR: 10
MWCNT-COOH/CSPE	0 – 180	FEN: 60
		CLOR: 60
PLLA-IS/rGO	0 - 180	FEN: 60
		CLOR: 60
GC	0 – 200	FEN: 60
		CLOR: 30

A Figura 15 apresenta os voltamogramas de pulso diferencial obtidos para $2,4 \times 10^{-5}$ mol L de fenilefrina e $1,3 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de clorfeniramina, ambas com 60 segundos de tempo de acumulação, utilizando-se o eletrodo PLLA-IS/rGO. A fenilefrina apresentou potencial de pico em aproximadamente 0,95 V e a clorfeniramina em aproximadamente 1,10 V.

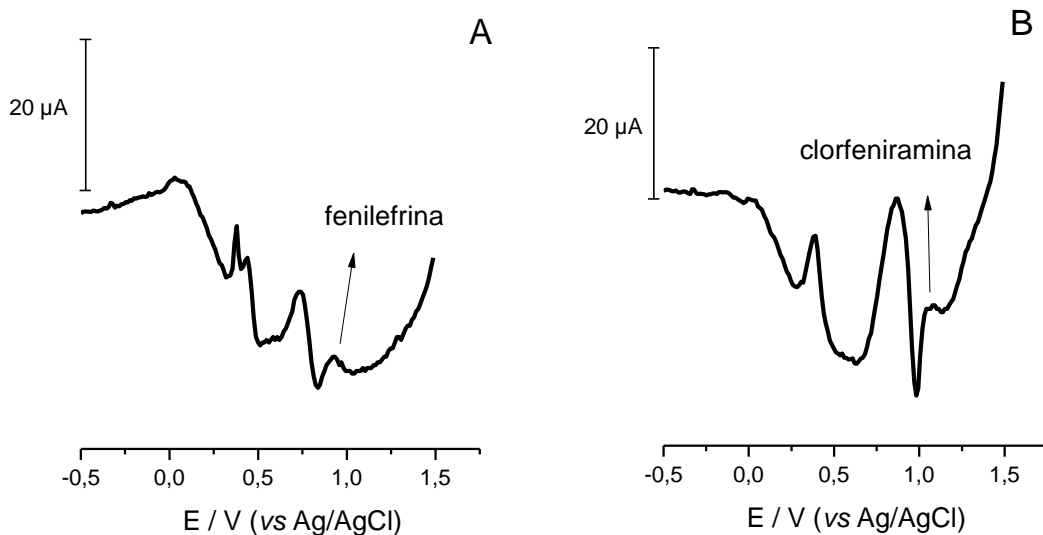


Figura 15. Voltamogramas de pulso diferencial para **A)** fenilefrina $2,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e **B)** clorfeniramina $1,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $E_a(\text{fenilefrina}) = -0,05 \text{ V}$, $E_a(\text{clorfeniramina}) = -0,95 \text{ V}$, $t_a(\text{fenilefrina, clorfeniramina}) = 60 \text{ s}$, $v(\text{fenilefrina, clorfeniramina}) = 0,12 \text{ V s}^{-1}$, $\text{pH}(\text{fenilefrina, clorfeniramina}) = 9,00$, em presença de amostra comercial. Eletrodo de trabalho PLLA-IS/rGO.

5.1.4 Variação da velocidade de varredura

A variação da velocidade de varredura no perfil de um voltamograma é comumente estudada para se obter parâmetros cinéticos e de reversibilidade do sistema eletroquímico, assim como determinar se a corrente resultante dos processos do analito com o eletrodo é limitado por difusão ou por adsorção.

Se por um lado, o aumento da velocidade de varredura dos potenciais diminui o tempo de determinação, por outro lado, uma velocidade de varredura muito alta pode resultar em distorção dos picos. Com isso, haveria uma perda de resolução, de modo que ou não haverá registros de corrente em pontos importantes dos picos voltamétricos (o que afetará as suas formas e definições, no caso, altura e largura dos picos) ou, até mesmo, esses picos poderão não ser registrados.⁷⁸

Na otimização do parâmetro velocidade de varredura ideal para o paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, a mesma foi variada de 5 a 120 m V s⁻¹, em incrementos de 5 e 10 m V s⁻¹. Os resultados obtidos estão expostos na Tabela 6.

Tabela 6. Resultados encontrados após a otimização da velocidade de varredura.

Eletrodo	Faixa Estudada de v (mV s⁻¹)	v Seleccionada (mV s⁻¹)
CSPE	0,01 – 0,12	PAR: 0,11
		FEN: 0,12
		CLOR: 0,12
SWCNT-COOH/CSPE	0,005 – 0,12	PAR: 0,10
		FEN: 0,12
		CLOR: 0,12
MWCNT-COOH/CSPE	0,005 – 0,12	PAR: 0,12
		FEN: 0,09
		CLOR: 0,10
PLLA-IS/rGO	0,005 – 0,12	PAR: 0,12
		FEN: 0,09
		CLOR: 0,10
GC	0,005 – 0,12	PAR: 0,01
		FEN: 0,12
		CLOR: 0,04

Pelo estudo da variação da velocidade de varredura, observou-se que para o paracetamol, houve aumento de corrente com o aumento da velocidade de varredura (de 1,2 a 2,1 µA), nos eletrodos de CSPE e MWCNT-COOH/CSPE. Para o eletrodo GC, a o aumento da velocidade de varredura proporcionou aumento significativo de corrente de pico. Entretanto, não foi possível utilizar velocidades de varredura acima de 10 mV s⁻¹, devido à perda de resolução dos voltamogramas. Nos demais eletrodos, o aumento da velocidade de varredura não proporcionou aumento significativo da corrente de pico.

A velocidade de varredura em relação à corrente de pico aumentou linearmente, de 2 a 5 µA, no estudo da fenilefrina, com o eletrodo CSPE. O eletrodo SWCNT-COOH/CSPE, também apresentou aumento linear, discreto, de 0,1 a 1,0 µA. Para o

eletrodo de PLLA-IS/rGO, houve aumento significativo da corrente de pico com o aumento da velocidade de varredura. O aumento da velocidade de varredura nos demais eletrodos, não apresentou variações significativas de corrente de pico.

A clorfeniramina apresentou aumento na sua corrente de pico, com o aumento da velocidade de varredura, em todos os eletrodos em estudo. No eletrodo CSPE, de 2,0 a 6,0 μA , houve aumento significativo da corrente de pico. Para o eletrodo de MWCNT-COOH/CSPE, houve aumento da corrente de pico, até 0,8 μA (80 mV s^{-1}), após não houve aumento significativo de corrente com o aumento da velocidade. No eletrodo de CG, houve aumento da corrente de pico com aumento da velocidade de varredura, até 0,2 μA , e após decréscimo significativo de corrente. Assim como para o paracetamol, a velocidade de varredura utilizada não pôde ser maior que 40 mV s^{-1} , devido à perda de resolução dos voltamogramas.

Dados da raiz quadrada das velocidades de varredura *versus* corrente de pico foram obtidos para o paracetamol, em cada um dos eletrodos estudados, para definição do processo predominante no transporte dos analitos. A relação linear da corrente de pico em função da raiz quadrada da velocidade define que os processos eletroquímicos são controlados por difusão. Em caso de não linearidade, é possível dizer que o processo adsorptivo é predominante. Os dados obtidos para o paracetamol, lineares, demonstram que o processo predominante, em solução aquosa contendo a amostra, para todos os eletrodos em estudo é controlado por difusão. A Figura 16 apresenta os gráficos da raiz quadrada das velocidades de varredura *versus* corrente de pico para o paracetamol, nos cinco eletrodos estudados.

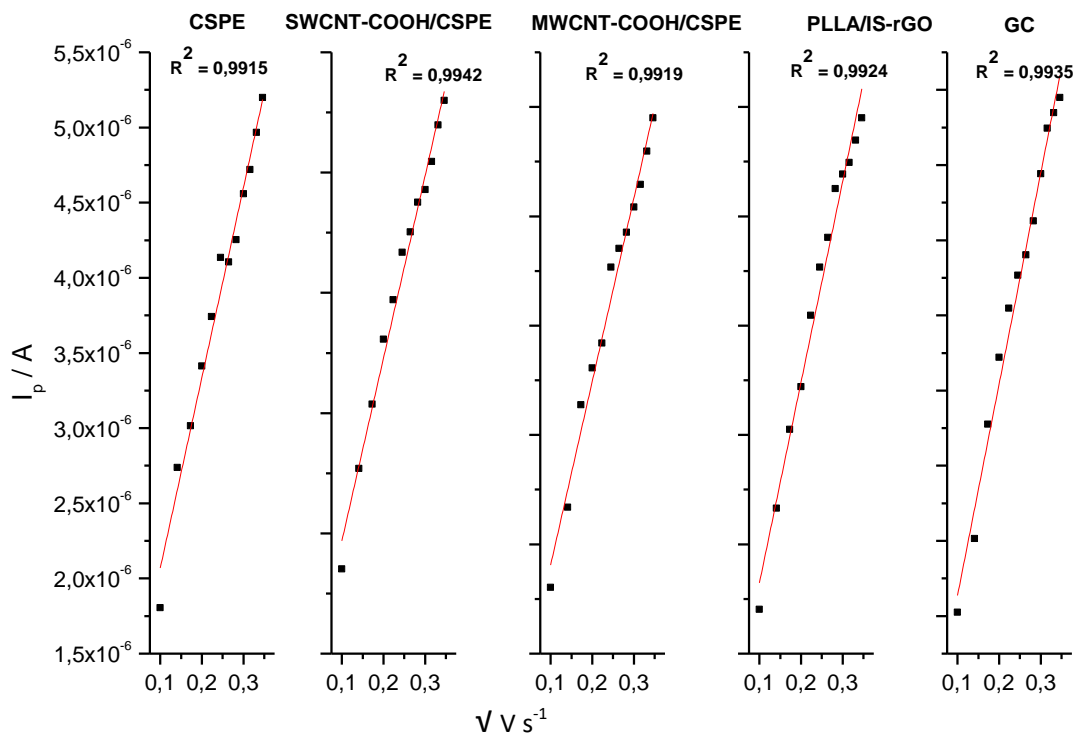


Figura 16. Gráficos da corrente de pico vs. raiz quadrada da velocidade de varredura para o paracetamol, nos eletrodos de CSPE, SWCNT-COOH/CSPE, MWCNT-COOH/CSPE, PLLA-IS/rGO e GC.

A Figura 17 apresenta os voltamogramas de varredura linear e de pulso diferencial obtidos para o paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, no eletrodo de PLLA-IS/RGO, nas velocidades de 0,12, 0,09 e 0,10 $V s^{-1}$, respectivamente. O paracetamol apresentou potencial de pico em aproximadamente 0,20 V. Já a fenilefrina em aproximadamente 0,75 V e a clorfeniramina em aproximadamente 0,90 V.

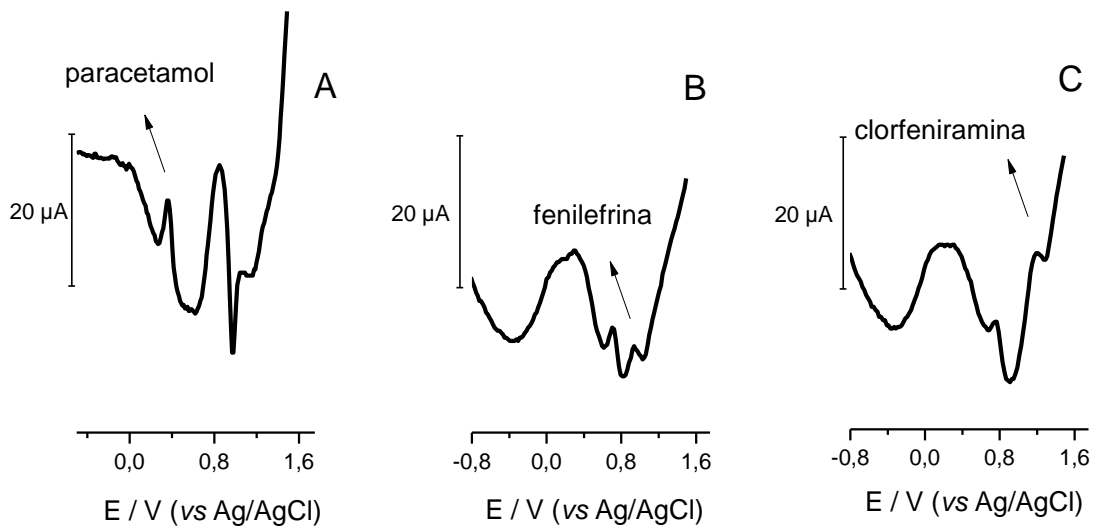


Figura 17. Voltamogramas de varredura linear e de pulso diferencial para **A)** paracetamol, $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, **B)** fenilefrina, $2,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e **C)** clorfeniramina, $1,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $v_{\text{(paracetamol)}} = 0,12 \text{ V s}^{-1}$, $\text{pH}_{\text{(paracetamol)}} = 8,00$, $E_a(\text{fenilefrina}) = -0,05 \text{ V}$, $E_a(\text{clorfeniramina}) = -0,95 \text{ V}$, $t_a(\text{fenilefrina, clorfeniramina}) = 60 \text{ s}$, $v_{\text{(fenilefrina)}} = 0,09 \text{ V s}^{-1}$, $v_{\text{(clorfeniramina)}} = 0,10 \text{ V s}^{-1}$, $\text{pH}_{\text{(fenilefrina, clorfeniramina)}} = 9,00$, em presença de amostra comercial. Eletrodo de trabalho PLLA-IS/rGO.

A Tabela 7 apresenta o resumo dos parâmetros estudados, para cada um dos eletrodos de alótropos do carbono e seus respectivos valores selecionados para o desenvolvimento dos métodos.

Tabela 7. Parâmetros investigados por LV e DPV e seus respectivos resultados otimizados para a determinação de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, nos eletrodos estudados.

Eletrodo	Parâmetro	PAR	FEN	CLOR
CSPE	pH	1,57	10,66	12,03
	E_a (V)	- 0,15	- 1,00	0,50
	t_a (s)	200	80	10
	v ($V s^{-1}$)	0,11	0,12	0,12
SWCNT-COOH/CSPE	pH	8,10	8,80	8,80
	E_a (V)	-	- 1,25	- 1,15
	t_a (s)	-	20	10
	V ($V s^{-1}$)	0,10	0,12	0,12
MWCNT-COOH/CSPE	pH	8,10	8,80	8,80
	E_a (V)	-	- 0,95	- 1,15
	t_a (s)	-	60	60
	V ($V s^{-1}$)	0,12	0,09	0,10
PLLA-IS/rGO	pH	8,10	8,80	8,80
	E_a (V)	-	- 0,05	- 0,95
	t_a (s)	-	60	60
	V ($V s^{-1}$)	0,12	0,09	0,10
GC	pH	8,10	8,80	8,80
	E_a (V)	-	0,30	- 1,40
	t_a (s)	-	60	30
	V ($V s^{-1}$)	0,01	0,12	0,04

5.1.5 Estudo da reversibilidade

A técnica de voltametria cíclica possibilita o estudo da reversibilidade do sistema eletroquímico. Utilizando-se os parâmetros previamente otimizados, os seguintes voltamogramas cíclicos foram obtidos, nas células contendo as amostras, expostos nas Figuras 18, 19 e 20, para o paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, respectivamente.

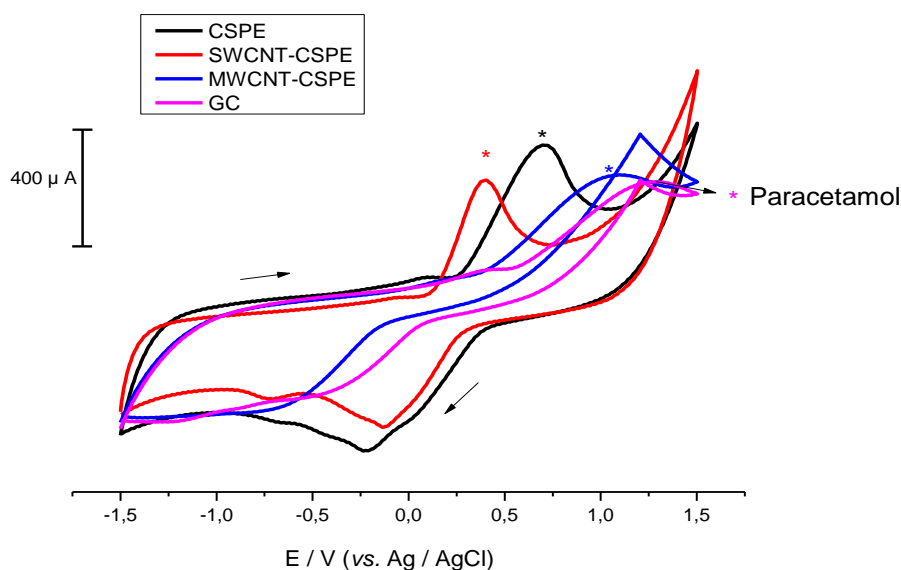


Figura 18. Voltamogramas cíclicos para o paracetamol (CSPE, SWCNT-COOH/CSPE, MWCNT-COOH/CSPE: $4,7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, PLLA-IS/rGO e GC: $9,9 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, nos eletrodos estudados. pH 8, $v = 0,12 \text{ V s}^{-1}$.

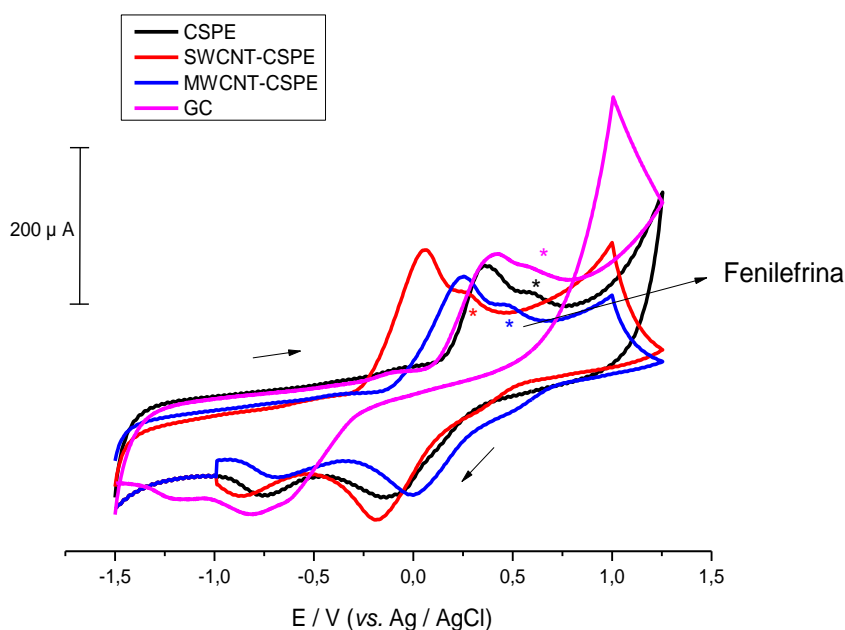


Figura 19. Voltamogramas cíclicos para a fenilefrina (CSPE, SWCNT-COOH/CSPE, MWCNT-COOH/CSPE: $2,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, PLLA-IS/rGO e GC: $4,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, nos eletrodos estudados. pH = 9, $v = 0,12 \text{ V s}^{-1}$.

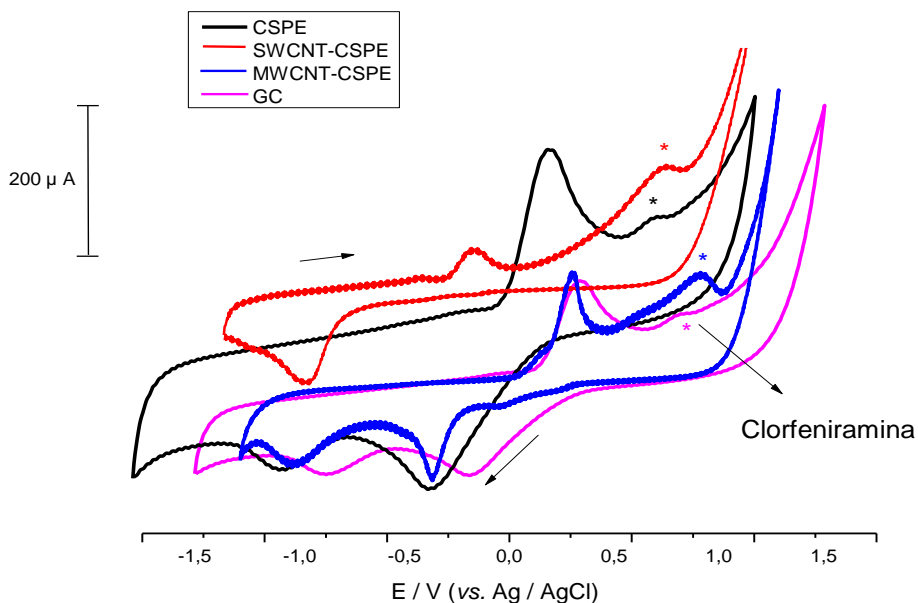


Figura 20. Voltamogramas cíclicos para a clorfeniramina (CSPE, SWCNT-COOH/CSPE, MWCNT-COOH/CSPE: $1,3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, PLLA-IS/rGO e GC: $2,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, em eletrodos estudados. pH = 9, $v = 0,12 \text{ V s}^{-1}$.

Através dos voltamogramas cíclicos apresentados nas Figuras 18, 19 e 20 observa-se que o paracetamol apresenta reversibilidade em solução, enquanto a fenilefrina e a clorfeniramina apresentaram irreversibilidade, para os todos os eletrodos estudados, não apresentando picos de oxidação no sentido da redução. O paracetamol apresentou pico de oxidação em aproximadamente 0,70 V no eletrodo de CSPE, em 0,40 V no eletrodo de SWCNT-COOH/CSPE, em 1,00 V em eletrodo de MWCNT-COOH/CSPE e em 1,10 V em eletrodo de GC. A fenilefrina apresentou pico de oxidação, em eletrodo de CSPE, em aproximadamente 0,55 V, em 0,20 V no eletrodo de SWCNT-COOH/CSPE, em eletrodo MWCNT-COOH/CSPE em 0,45 V e em eletrodo de GC, 0,55 V. No eletrodo de CSPE, a clorfeniramina apresentou pico de oxidação em aproximadamente 0,55 V, em 0,70 V em eletrodo SWCNT-COOH/CSPE, em eletrodo MWCNT-COOH/CSPE em aproximadamente 0,80 V e em 0,85 V em eletrodo de GC. Os comportamentos de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina mantiveram-se iguais nos estudos de reversibilidade para as demais amostras comerciais, estando em conformidade com estudos reportados na literatura.^{45,79,80}

5.2 Validação do Método Analítico

Após a otimização dos parâmetros experimentais, algumas figuras de mérito foram estudadas, demonstradas a seguir.

5.2.1 Precisão e Linearidade

A precisão dos métodos foi determinada a partir do desvio padrão relativo das correntes de pico, para os eletrodos CSPE, SWCNT-COOH/CSPE e MWCNT-COOH/CSPE $5,82 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de paracetamol, $2,46 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de fenilefrina e $1,27 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de clorfeniramina, e para o eletrodo GC, $5,96 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de paracetamol, $3,21 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de fenilefrina e $1,64 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de clorfeniramina, na célula. Para cada um dos analitos, sempre foi utilizado um número de medidas, $n = 3$. Os resultados obtidos estão expostos na Tabela 8.

Tabela 8. Desvios-padrão obtidos pelos métodos propostos para paracetamol (PAR), fenilefrina (FEN) e clorfeniramina (CLOR), nos eletrodos em estudo.

Eletrodo	PAR (%)	FEN (%)	CLOR (%)
CSPE	≤ 3	≤ 1	≤ 5
SWCNT-COOH/CSPE	≤ 2	≤ 4	≤ 2
MWCNT-COOH/CSPE	≤ 3	≤ 1	≤ 5
GC	≤ 1	≤ 2	≤ 10

A linearidade foi determinada através da obtenção das curvas analíticas de adição de padrão individuais de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, em triplicata, tendo como parâmetro um coeficiente de determinação, R^2 , de 0,99. Percebe-se, pela Tabela 9, que os limites superiores da linearidade foram, de forma geral, menores no eletrodo de carbono vítreo (GC) do que nos eletrodos impressos (SPEs), provavelmente pelo fato do GC apresentar um diâmetro de 3 mm e os SPEs, 4 mm e, conseqüentemente, áreas geométricas de cerca de 7 e 13 mm², respectivamente.

Tabela 9. Linearidades obtidas pelo método proposto para paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, nos eletrodos em estudo.

Eletrodo	PAR (mol L⁻¹)	FEN (mol L⁻¹)	CLOR (mol L⁻¹)
CSPE	1,34 x 10 ⁻²	1,72 x 10 ⁻⁴	1,05 x 10 ⁻⁴
SWCNT-COOH/CSPE	1,34 x 10 ⁻²	1,72 x 10 ⁻⁴	1,05 x 10 ⁻⁴
MWCNT-COOH/CSPE	1,34 x 10 ⁻²	1,72 x 10 ⁻⁴	1,05 x 10 ⁻⁴
GC	2,42 x 10 ⁻³	1,38 x 10 ⁻⁴	6,53 x 10 ⁻⁵

5.2.2 Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

Os termos limite de quantificação (LQ) e limite de detecção (LD) são utilizados para demonstrar a capacidade do método em quantificar/detectar baixas concentrações de um analito.⁵⁶

O limite de detecção é definido como a menor concentração de um analito que o método é capaz de diferenciar de forma confiável do ruído de fundo. É importante perceber que esta concentração é detectada com segurança, mas não pode ser quantificada.⁵⁶ O limite de quantificação é definido como a menor concentração do analito de interesse em uma amostra, que pode ser quantitativamente determinado com valores aceitáveis de precisão e exatidão. O LD foi obtido multiplicando-se o desvio padrão das correntes de pico do branco por 3, e o resultado foi dividido pela inclinação da reta da curva analítica. O LQ foi obtido multiplicando-se o desvio padrão das correntes de pico do branco por 10, e o resultado foi dividido pela inclinação da reta da curva analítica. Os valores de LD e LQ, em mol L⁻¹ para os analitos encontram-se na Tabela 10.

Tabela 10. Limites de Detecção (LD) e de Quantificação (LQ), para paracetamol, clorfeniramina e fenilefrina, por voltametria LV e DPV.

Eletrodo	PAR	FEN	CLOR
	LD/LQ (mol L ⁻¹)	LD/LQ (mol L ⁻¹)	LD/LQ (mol L ⁻¹)
CSPE	5,88 x 10 ⁻⁶ / 1,96 x 10 ⁻⁵	2,52 x 10 ⁻⁶ / 8,39 x 10 ⁻⁶	6,62 x 10 ⁻⁶ / 2,21 x 10 ⁻⁵
SWCNT-COOH/CSPE	1,36 x 10 ⁻⁶ / 4,52 x 10 ⁻⁶	3,15 x 10 ⁻⁶ / 6,05 x 10 ⁻⁶	6,93 x 10 ⁻⁶ / 2,31 x 10 ⁻⁵
MWCNT-COOH/CSPE	2,30 x 10 ⁻⁶ / 7,66 x 10 ⁻⁶	1,60 x 10 ⁻⁶ / 5,32 x 10 ⁻⁶	4,76 x 10 ⁻⁶ / 1,59 x 10 ⁻⁵
GC	1,81 x 10 ⁻⁶ / 5,42 x 10 ⁻⁶	1,41 x 10 ⁻⁶ / 4,47 x 10 ⁻⁶	1,11 x 10 ⁻⁶ / 3,69 x 10 ⁻⁶

Observa-se, que os LDs para paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina mantiveram-se semelhantes em todos os eletrodos estudados, sendo os menores LDs para o paracetamol encontrados nos eletrodos SWCNT-COOH/CSPE e GC. Para a fenilefrina, o eletrodo MWCNT-COOH/CSPE apresentou o menor valor de LDs e o eletrodo GC apresentou o menor LD para a clorfeniramina. Os valores de LD e LQ encontrados, para paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, foram considerados satisfatórios para a quantificação dos analitos em solução aquosa contendo amostras comerciais.

5.2.3 Exatidão e aplicação em amostras comerciais

Para a determinação da concentração de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina em quatro amostras comerciais em solução aquosa, à célula voltamétrica, contendo 10 mL de água com pH ideal para a determinação de cada analito, separadamente, foi adicionada uma certa alíquota de amostra, dependendo do eletrodo utilizado. Em seguida, voltamogramas lineares e de pulso diferencial, respectivamente, foram obtidos para paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, em triplicatas, sendo cada análise uma célula diferente.

Após as leituras das intensidades de corrente de pico geradas pelas amostras, foram realizadas cinco adições crescentes de padrão de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, nos eletrodos CSPE, SWCNT-COOH/CSPE, MWCNT-COOH/CSPE e GC.

De acordo com as Tabelas 11, 12, 13 e 14, a primeira coluna apresenta a concentração encontrada no rótulo das amostras comerciais, sendo as recuperações

encontradas pelo método de adição de padrão de 91,34 a 108,18% para o paracetamol, 95,56 a 106,87% para a fenilefrina e de 90,82 a 107,07% para a clorfeniramina, sendo consideradas quantitativas, pois se encontram dentro da faixa estabelecida pelos compêndios oficiais para os analitos em soluções orais (90 a 110%).^{81,82,83}

A exatidão do método foi avaliada por meio de ensaios de recuperação em soluções contendo amostras comerciais, das concentrações dos analitos, segundo as Tabelas 11, 12, 13 e 14. A Tabela 15 apresenta os resultados obtidos, em mg g⁻¹ para amostras comerciais em sachê e em mg compr⁻¹ para amostras comerciais em comprimidos, na determinação sequencial de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina em amostras comerciais, pelos métodos propostos de LV e DPV.

Tabela 11. Determinações e recuperações de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina em amostras comerciais, em eletrodo CSPE. n = 3.

	Amostra 1		Amostra 2		Amostra 3		Amostra 4		
	Conc. adic. (mol L ⁻¹)	0	2,43x10 ⁻³	0	2,43x10 ⁻³	0	2,43x10 ⁻³	0	2,43x10 ⁻³
PAR	Conc. enc. (mol L ⁻¹)	1,52x10 ⁻³ ±0,01	3,78x10 ⁻³ ±0,02	7,78x10 ⁻⁴ ±0,01	3,25x10 ⁻³ ±0,02	6,17x10 ⁻³ ±0,01	8,88x10 ⁻³ ±0,02	1,14x10 ⁻⁴ ±0,03	2,32x10 ⁻³ ±0,03
	Recuperação (%)	-	97,17	-	102,20	-	105,84	-	91,34
	Conc. adic. (mol L ⁻¹)	0	3,56x10 ⁻⁵	0	3,56x10 ⁻⁵	0	3,56x10 ⁻⁵	0	3,56x10 ⁻⁵
FEN	Conc. enc. (mol L ⁻¹)	1,56x10 ⁻⁵ ±0,02	5,20x10 ⁻⁵ ±0,03	3,55x10 ⁻⁵ ±0,01	7,01x10 ⁻⁵ ±0,01	2,56x10 ⁻⁵ ±0,03	6,06x10 ⁻⁵ ±0,02	5,43x10 ⁻⁶ ±0,03	4,02x10 ⁻⁵ ±0,03
	Recuperação (%)	-	101,56	-	99,01	-	99,02	-	97,81
	Conc. adic. (mol L ⁻¹)	0	1,83x10 ⁻⁵	0	1,83x10 ⁻⁵	0	1,83x10 ⁻⁵	0	1,83x10 ⁻⁵
CLOR	Conc. enc. (mol L ⁻¹)	1,92x10 ⁻⁵ ±0,01	3,63x10 ⁻⁵ ±0,03	8,16x10 ⁻⁷ ±0,01	1,91x10 ⁻⁵ ±0,01	1,18x10 ⁻⁶ ±0,03	1,88x10 ⁻⁵ ±0,01	2,67x10 ⁻⁶ ±0,02	2,06x10 ⁻⁵ ±0,01
	Recuperação (%)	-	97,32	-	104,37	-	96,41	-	98,10

Tabela 12. Determinações e recuperações de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina em amostras comerciais, em eletrodo SWCNT-COOH/CSPE. $n = 3$

	Amostra 1		Amostra 2		Amostra 3		Amostra 4		
	Conc. adic. (mol L ⁻¹)	0	2,43x10 ⁻³	0	2,43x10 ⁻³	0	2,43x10 ⁻³	0	2,43x10 ⁻³
PAR	Conc. enc. (mol L ⁻¹)	1,50x10 ⁻² ±0,02	1,76x10 ⁻² ±0,03	1,60x10 ⁻³ ±0,01	3,99x10 ⁻³ ±0,02	2,27x10 ⁻³ ±0,01	4,52x10 ⁻³ ±0,02	4,98x10 ⁻³ ±0,01	7,19x10 ⁻³ ±0,02
	Recuperação (%)	-	104,42	-	100,50	-	97,84	-	99,31
	Conc. adic. (mol L ⁻¹)	0	3,56x10 ⁻⁵	0	3,56x10 ⁻⁵	0	3,56x10 ⁻⁵	0	3,56x10 ⁻⁵
FEN	Conc. enc. (mol L ⁻¹)	2,72x10 ⁻⁵ ±0,02	6,11x10 ⁻⁵ ±0,02	3,98x10 ⁻⁵ ±0,02	7,50x10 ⁻⁵ ±0,03	3,18x10 ⁻⁵ ±0,01	6,64x10 ⁻⁵ ±0,02	5,92x10 ⁻⁶ ±0,03	4,20x10 ⁻⁵ ±0,02
	Recuperação (%)	-	97,60	-	99,87	-	98,81	-	101,20
	Conc. adic. (mol L ⁻¹)	0	1,83x10 ⁻⁵	0	1,83x10 ⁻⁵	0	1,83x10 ⁻⁵	0	1,83x10 ⁻⁵
CLOR	Conc. enc. (mol L ⁻¹)	5,37x10 ⁻⁶ ±0,01	2,44x10 ⁻⁵ ±0,01	4,17x10 ⁻⁵ ±0,01	5,87x10 ⁻⁵ ±0,03	6,19x10 ⁻⁵ ±0,01	7,72x10 ⁻⁵ ±0,01	2,70x10 ⁻⁵ ±0,03	4,29x10 ⁻⁵ ±0,02
	Recuperação (%)	-	103,39	-	98,48	-	96,86	-	95,12

Tabela 13. Determinações e recuperações de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina em amostras comerciais, em eletrodo MWCNT-COOH/CSPE. $n = 3$.

		Amostra 1		Amostra 2		Amostra 3		Amostra 4	
	Conc. adic. (mol L ⁻¹)	0	2,43x10 ⁻³	0	2,43x10 ⁻³	0	2,43x10 ⁻³	0	2,43x10 ⁻³
PAR	Conc. enc. (mol L ⁻¹)	4,24x10 ⁻³ ±0,01	6,89x10 ⁻³ ±0,01	3,13x10 ⁻³ ±0,03	5,05x10 ⁻³ ±0,01	3,98x10 ⁻⁴ ±0,01	2,59x10 ⁻³ ±0,03	9,09x10 ⁻³ ±0,01	1,20x10 ⁻² ±0,01
	Recuperação (%)	-	105,67	-	92,66	-	92,17	-	107,14
	Conc. adic. (mol L ⁻¹)	0	3,56x10 ⁻⁵	0	3,56x10 ⁻⁵	0	3,56x10 ⁻⁵	0	3,56x10 ⁻⁵
FEN	Conc. enc. (mol L ⁻¹)	3,45x10 ⁻⁶ ±0,02	4,20x10 ⁻⁵ ±0,03	5,88x10 ⁻⁵ ±0,02	8,98x10 ⁻⁵ ±0,02	1,67x10 ⁻⁵ ±0,01	5,35x10 ⁻⁵ ±0,02	6,25x10 ⁻⁵ ±0,02	9,43x10 ⁻⁵ ±0,02
	Recuperação (%)	-	106,87	-	95,63	-	102,49	-	96,62
	Conc. adic. (mol L ⁻¹)	0	1,83x10 ⁻⁵	0	1,83x10 ⁻⁵	0	1,83x10 ⁻⁵	0	1,83x10 ⁻⁵
CLOR	Conc. enc. (mol L ⁻¹)	9,22x10 ⁻⁵ ±0,02	9,99x10 ⁻⁵ ±0,04	3,00x10 ⁻⁴ ±0,04	3,22x10 ⁻⁴ ±0,03	3,13x10 ⁻⁶ ±0,02	2,26x10 ⁻⁵ ±0,02	4,15x10 ⁻⁵ ±0,05	5,63x10 ⁻⁵ ±0,02
	Recuperação (%)	-	90,82	-	101,90	-	105,61	-	94,78

Tabela 14. Determinações e recuperações de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina em amostras comerciais, em eletrodo GC. $n = 3$

		Amostra 1		Amostra 2		Amostra 3		Amostra 4	
	Conc. adic. (mol L ⁻¹)	0	4,97x10 ⁻⁴	0	4,97x10 ⁻⁴	0	4,97x10 ⁻⁴	0	4,97x10 ⁻⁴
PAR	Conc. enc. (mol L ⁻¹)	6,00x10 ⁻⁴ ±0,01	1,16x10 ⁻³ ±0,02	2,22x10 ⁻⁴ ±0,02	7,25x10 ⁻⁴ ±0,03	2,33x10 ⁻⁴ ±0,03	7,22x10 ⁻⁴ ±0,01	6,06x10 ⁻⁴ ±0,02	1,19x10 ⁻³ ±0,04
	Recuperação (%)	-	106,42	-	100,97	-	99,18	-	108,18
	Conc. adic. (mol L ⁻¹)	0	2,37x10 ⁻⁵	0	2,37x10 ⁻⁵	0	2,37x10 ⁻⁵	0	2,37x10 ⁻⁵
FEN	Conc. enc. (mol L ⁻¹)	2,86x10 ⁻⁵ ±0,04	5,26x10 ⁻⁵ ±0,03	4,62x10 ⁻⁵ ±0,03	2,52x10 ⁻⁵ ±0,04	4,62x10 ⁻⁵ ±0,04	6,83x10 ⁻⁵ ±0,03	7,58x10 ⁻⁵ ±0,02	9,46x10 ⁻⁵ ±0,02
	Recuperação (%)	-	100,96	-	105,88	-	98,13	-	95,56
	Conc. adic. (mol L ⁻¹)	0	1,34x10 ⁻⁵	0	1,34x10 ⁻⁵	0	1,34x10 ⁻⁵	0	1,34x10 ⁻⁵
CLOR	Conc. enc. (mol L ⁻¹)	6,42x10 ⁻⁶ ±0,03	2,12x10 ⁻⁵ ±0,01	6,99x10 ⁻⁶ ±0,05	2,00x10 ⁻⁵ ±0,01	5,26x10 ⁻⁶ ±0,05	1,78x10 ⁻⁵ ±0,03	5,20x10 ⁻⁶ ±0,04	1,96x10 ⁻⁵ ±0,05
	Recuperação (%)	-	107,07	-	98,04	-	95,19	-	105,38

Tabela 15. Resultados obtidos na determinação sequencial de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, em formulações farmacêuticas antigripais, por LV e DPV, em cada um dos eletrodos estudados.

	Eletrodo	Valor Tabelado (mg g⁻¹ / mg compr⁻¹)	Amostra 1 (mg g⁻¹)	Amostra 2 (mg g⁻¹)	Amostra 3 (mg g⁻¹)	Amostra 4 (mg compr⁻¹)
PAR	CSPE	80,00 / 400,00	77,74	81,76	84,67	365,36
	SWCNT-COOH/CSPE		83,54	80,40	78,27	397,24
	MWCNT-COOH/CSPE		84,54	74,13	73,74	428,56
	GC		85,14	80,78	79,34	432,72
FEN	CSPE	0,80 / 4,00	0,81	0,79	0,79	3,91
	SWCNT-COOH/CSPE		0,78	0,80	0,79	4,05
	MWCNT-COOH/CSPE		0,85	0,77	0,82	3,86
	GC		0,81	0,85	0,79	3,82
CLOR	CSPE	0,80 / 4,00	0,78	0,83	0,77	3,92
	SWCNT-COOH/CSPE		0,83	0,79	0,77	3,80
	MWCNT-COOH/CSPE		0,73	0,82	0,84	3,79
	GC		0,86	0,78	0,76	4,22

Os resultados obtidos mediante voltametria linear e voltametria de pulso diferencial foram comparados com os valores contidos nos rótulos das amostras avaliadas, sendo esses tomados como verdadeiros. O valor do rótulo foi determinado através de cromatografia líquida de alta eficiência, como descrito no compêndio oficial, sendo os resultados obtidos por LV e DPV não estatisticamente diferentes segundo o teste *t-student*, com nível de confiança de 95%, para os analitos. Os valores obtidos foram considerados dentro da faixa de aceitação quantitativa do método expostos nos compêndios oficiais (90 a 110%).^{81,82,83}

As Figuras 21, 22 e 23 apresentam os voltamogramas lineares e de pulso diferencial, para o paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, respectivamente, e suas curvas analíticas, obtidos através do método de adição de padrão, para amostras antigripais comerciais, em eletrodo CSPE.

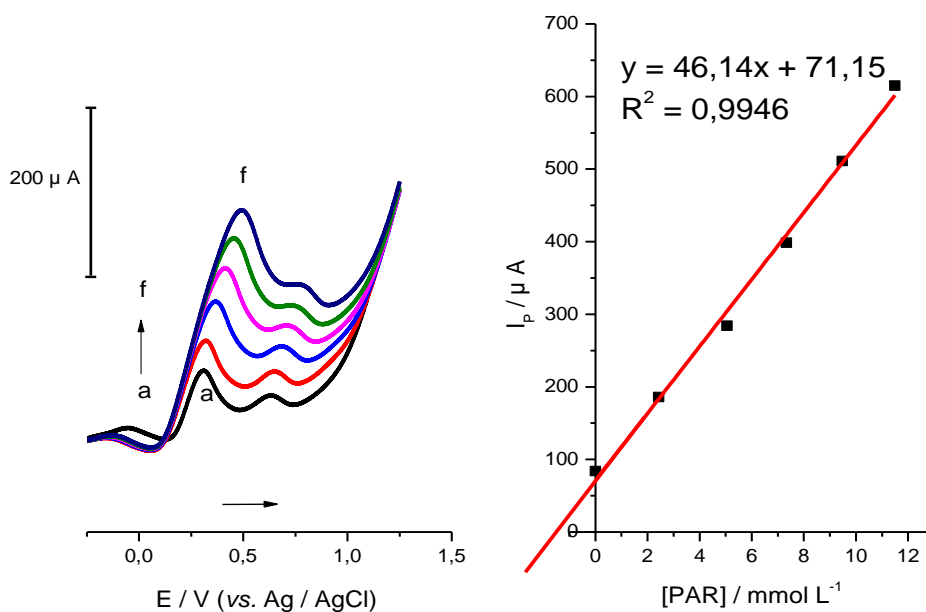


Figura 21. Voltamogramas lineares para o paracetamol em água, tampão fosfato e alíquota de amostras comerciais em eletrodo CSPE. Paracetamol (a..f): $2,43 \times 10^{-3}$ a $1,15 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. Curva de adição padrão de paracetamol: pH 1,57, $v = 0,11 \text{ V s}^{-1}$.

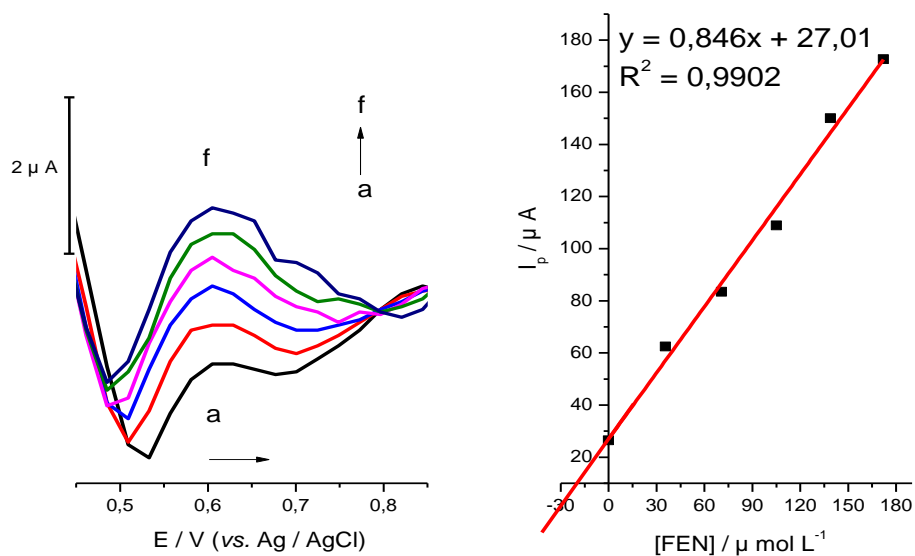


Figura 22. Voltamogramas de pulso diferencial para a fenilefrina em água, tampão fosfato e alíquota de amostras comerciais em CSPE. Fenilefrina (a..f): $3,56 \times 10^{-5}$ a $1,72 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. Curva de adição padrão de fenilefrina: pH = 10,66, $E_a = -1,00$ V, $t_a = 80$ s, $v = 0,12$ V s⁻¹.

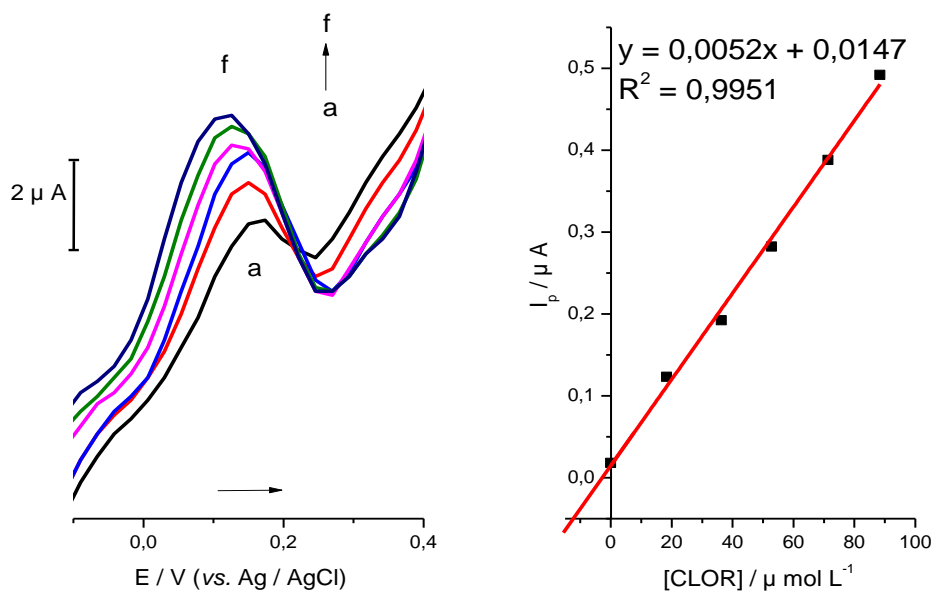


Figura 23. Voltamogramas de pulso diferencial para a clorfeniramina, em água, tampão fosfato e alíquota de amostras comerciais em eletrodo CSPE. Clorfeniramina (a..f): $1,83 \times 10^{-5}$ a $8,84 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. Curva de adição padrão de clorfeniramina: pH = 12,03, $E_a = 0,50$ V, $t_a = 10$ s, $v = 0,12$ V s⁻¹.

O método proposto mostrou-se satisfatório para a determinação de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, nas condições otimizadas previamente, em amostras comerciais, utilizando-se o eletrodo CSPE. As curvas analíticas apresentaram coeficientes de determinação superiores a 0,99. O paracetamol apresentou pico de oxidação em aproximadamente +0,30 V, havendo um leve deslocamento no seu pico de oxidação com as adições (a..f). Já a fenilefrina e a clorfeniramina mantiveram-se estáveis em relação aos seus picos de oxidação, 0,60 e 0,15 V, respectivamente.

As Figuras 24, 25 e 26 apresentam os voltamogramas de varredura linear e de pulso diferencial obtidos com o emprego do método de adição de padrão, para o paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, respectivamente, e suas curvas analíticas, para amostras farmacêuticas comerciais, utilizando-se o eletrodo SWCNT-COOH/CSPE.

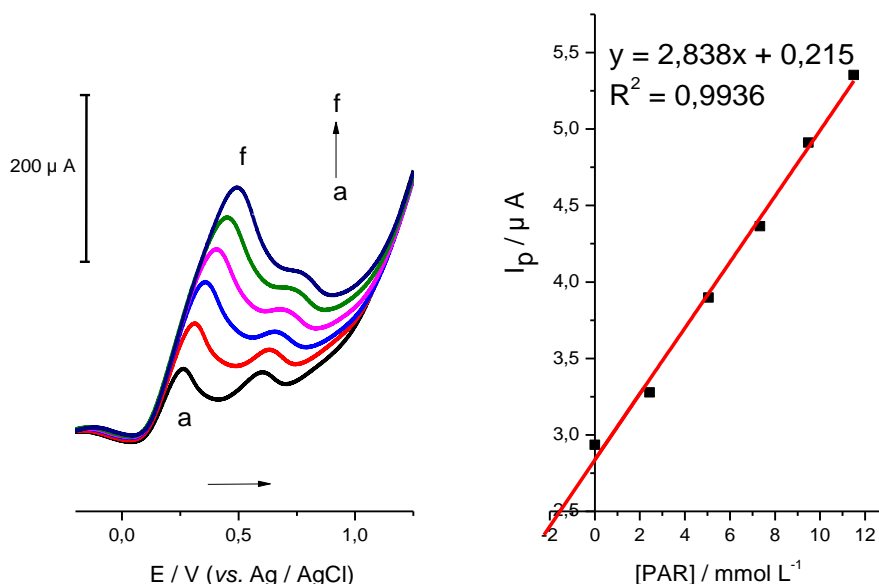


Figura 24. Voltamogramas de varredura linear para o paracetamol em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, em eletrodo SWCNT-COOH/CSPE. Paracetamol (a..f): $2,43 \times 10^{-3}$ a $1,15 \times 10^{-2} mol L^{-1}$. Curva de adição padrão de paracetamol: pH 1,57, $v = 0,10 V s^{-1}$.

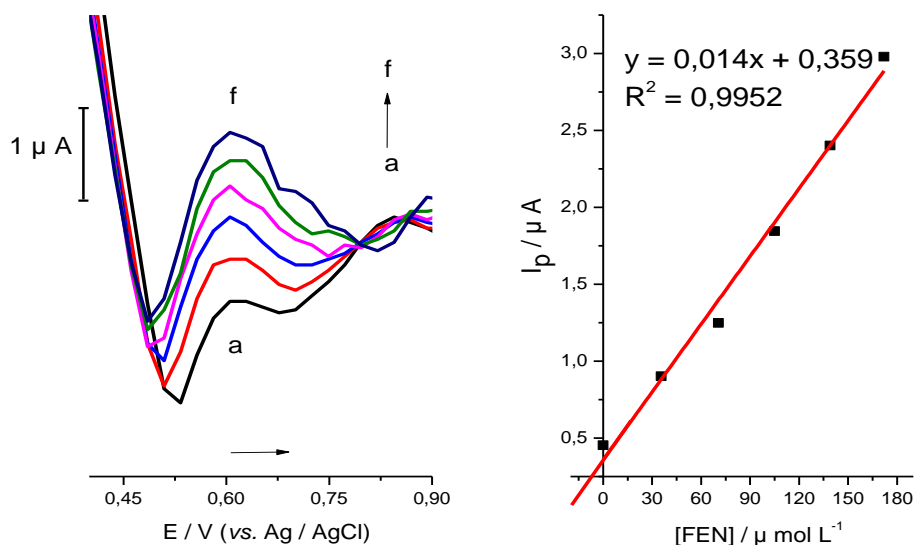


Figura 25. Voltamogramas de pulso diferencial para a fenilefrina em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, em eletrodo SWCNT-COOH/CSPE. Fenilefrina (a..f): $3,56 \times 10^{-5}$ a $1,72 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. Curva de adição padrão de fenilefrina: pH = 10,66, $E_a = -1,25$ V, $t_a = 20$ s, $v = 0,12$ V s⁻¹.

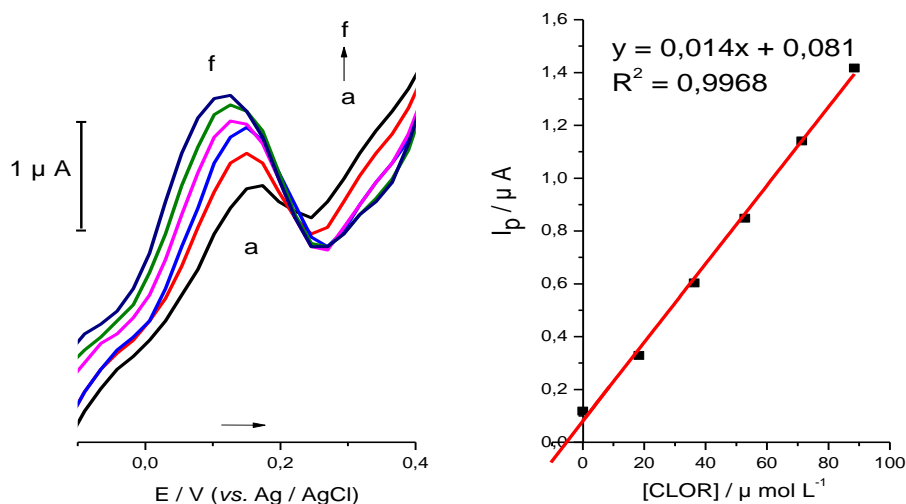


Figura 26. Voltamogramas de pulso diferencial para a clorfeniramina em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, em eletrodo SWCNT-COOH/CSPE. Clorfeniramina (a..f): $1,83 \times 10^{-5}$ a $8,84 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. Curva de adição padrão de clorfeniramina: pH = 12,03, $E_a = -1,15$ V, $t_a = 10$ s, $v = 0,12$ V s⁻¹.

O método proposto mostrou-se satisfatório para a determinação de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, nas condições otimizadas previamente, em amostras comerciais, utilizando-se o eletrodo SWCNT-COOH/CSPE. As curvas analíticas apresentaram coeficientes de determinação superiores a 0,99. O paracetamol apresentou pico de oxidação em aproximadamente 0,25 V, havendo um leve deslocamento no seu pico de oxidação com as adições (a..f). Já a fenilefrina e a clorfeniramina mantiveram-se estáveis em relação aos seus picos de oxidação, 0,60 e 0,15 V, respectivamente, comportamento igualmente obtido no eletrodo CSPE.

As Figuras 27, 28 e 29 apresentam os voltamogramas de varredura linear e de pulso diferencial para o paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, utilizando-se eletrodo MWCNT-COOH/CSPE.

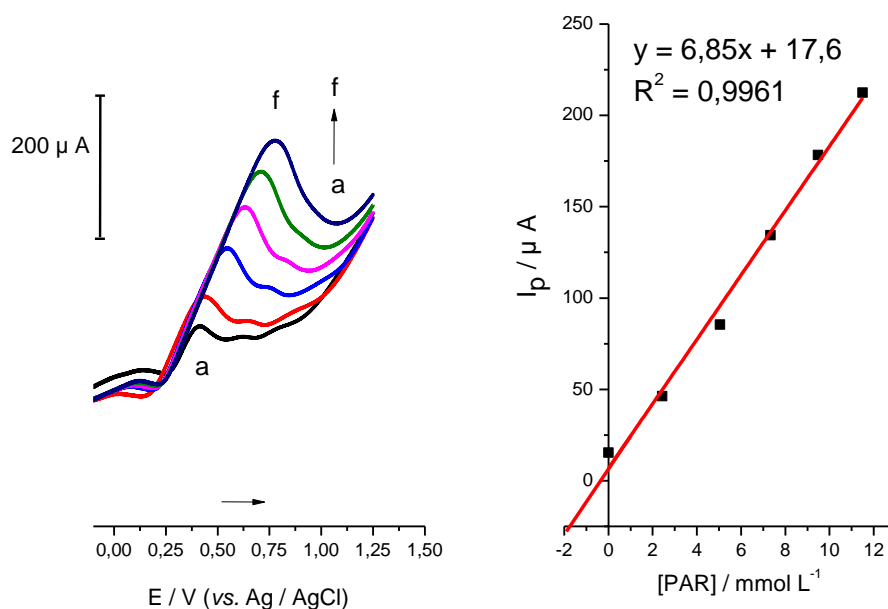


Figura 27. Voltamogramas de varredura linear para o paracetamol em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, em eletrodo MWCNT-COOH/CSPE. Paracetamol (a..f): $2,43 \times 10^{-3}$ a $1,15 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹. Curva de adição padrão de paracetamol: pH 8,0, $v = 0,12$ V s⁻¹.

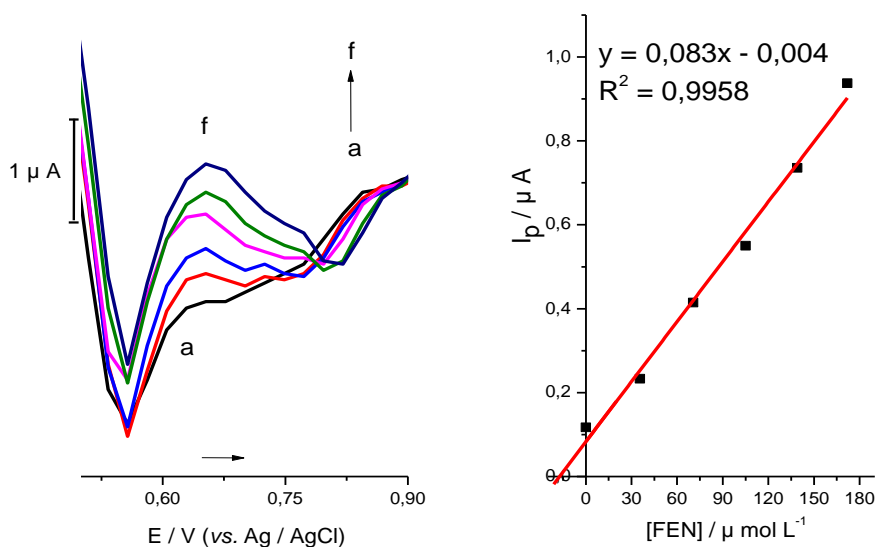


Figura 28. Voltamogramas de pulso diferencial para a fenilefrina em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, em eletrodo MWCNT-COOH/CSPE. Fenilefrina (a..f): $3,56 \times 10^{-5}$ a $1,72 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Curva de adição padrão de fenilefrina: $\text{pH} = 9,0$, $E_a = -0,95 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$, $v = 0,09 \text{ V s}^{-1}$.

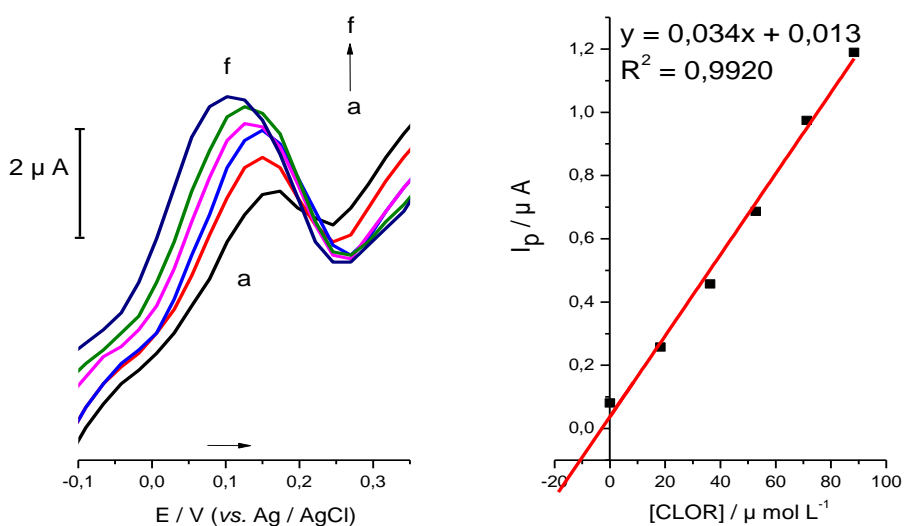


Figura 29. Voltamogramas de pulso diferencial para a clorfeniramina em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, em eletrodo MWCNT-COOH/CSPE. Clorfeniramina (a..f): $1,83 \times 10^{-5}$ a $8,84 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Curva de adição padrão de clorfeniramina: $\text{pH} = 9,0$, $E_a = -1,15 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$, $v = 0,10 \text{ V s}^{-1}$.

O método proposto mostrou-se satisfatório para a determinação de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, nas condições otimizadas previamente, em amostras comerciais, utilizando-se o eletrodo MWCNT-COOH/CSPE. As curvas analíticas apresentaram coeficientes de determinação superiores a 0,99. O paracetamol apresentou pico de oxidação em aproximadamente 0,30 V, havendo deslocamento no seu pico de oxidação com as adições (a..f). Já a fenilefrina e a clorfeniramina mantiveram-se estáveis em relação aos seus picos de oxidação, 0,55 e 0,15 V, respectivamente, comportamento igualmente obtido no eletrodo CSPE. O estudo de pH desenvolvido para esse eletrodo possibilitou melhor execução da análise, já que a faixa de pH dos três analitos manteve-se em escala semelhante (básica), otimizando o processo de ajuste de pH no preparo das soluções.

As Figuras 30, 31 e 32 apresentam os voltamogramas de varredura linear e de pulso diferencial para o paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, utilizando-se eletrodo GC, obtidos através do método de adição de padrão, de amostras comerciais farmacêuticas.

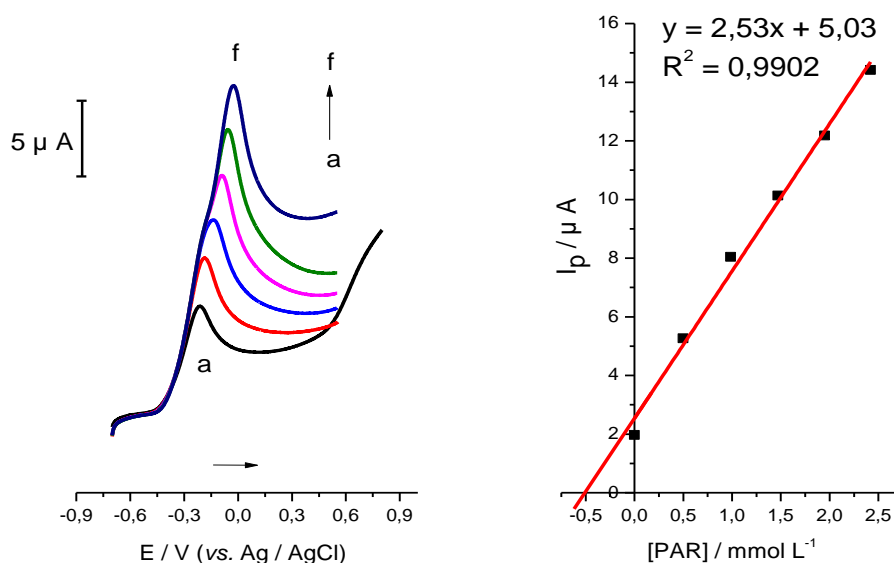


Figura 30. Voltamogramas de varredura linear para o paracetamol em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, em eletrodo GC. Paracetamol (a..f): $4,97 \times 10^{-4}$ a $2,42 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹. Curva de adição padrão de paracetamol: pH 8,0, $v = 0,01$ V s⁻¹.

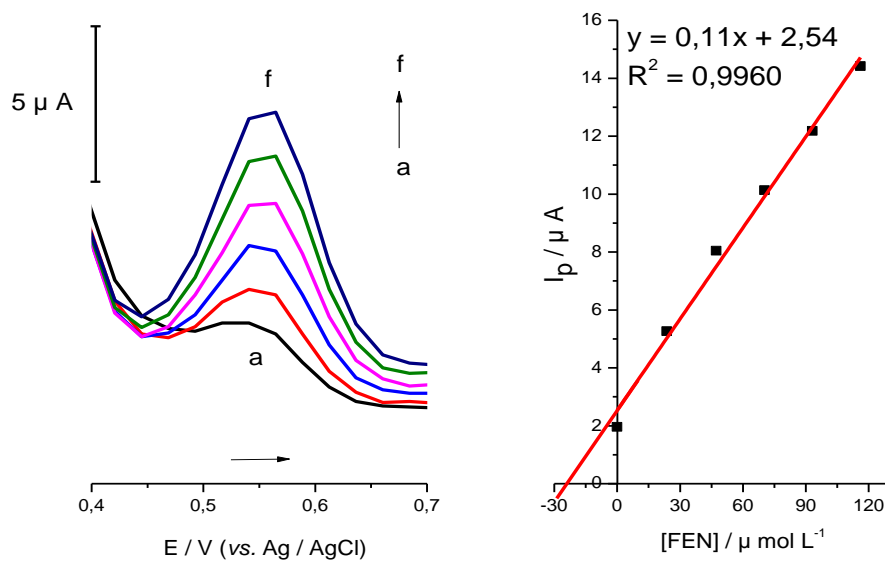


Figura 31. Voltamogramas de pulso diferencial para a fenilefrina em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, em eletrodo GC. Fenilefrina (a..f): $2,37 \times 10^{-5}$ a $1,16 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. Curva de adição padrão de fenilefrina: pH = 9,0, $E_d = 0,30$ V, $t_d = 60$ s, $v = 0,12$ V s⁻¹.

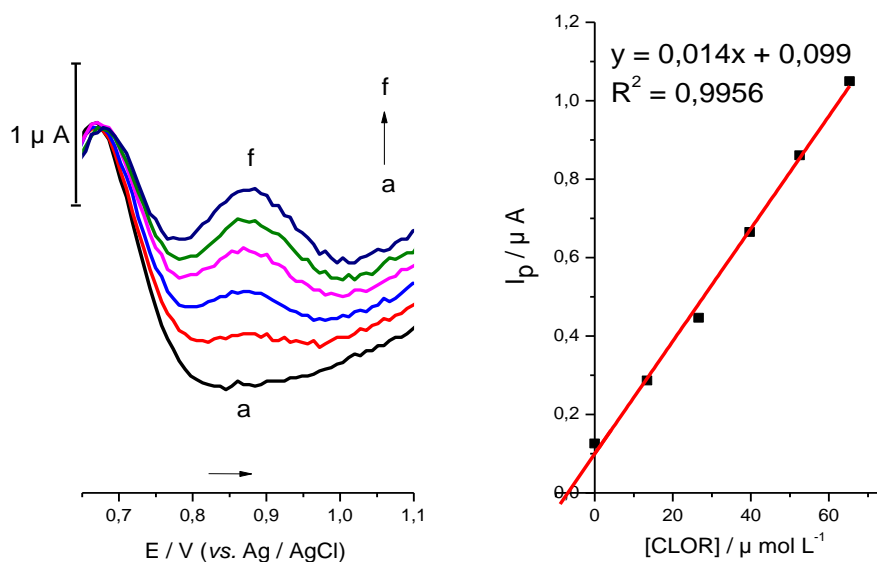


Figura 32. Voltamogramas de pulso diferencial para a clorfeniramina em água, tampão fosfato e alíquotas de amostras comerciais, em eletrodo GC. Clorfeniramina (a..f): $1,34 \times 10^{-5}$ a $6,53 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. Curva de adição padrão de clorfeniramina: pH = 9,0, $E_d = -1,40$ V, $t_d = 30$ s, $v = 0,04$ V s⁻¹.

O método para a determinação de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, nas condições otimizadas previamente, em amostras comerciais, utilizando-se o eletrodo GC mostrou-se satisfatório. As curvas analíticas apresentaram coeficientes de determinação superiores a 0,99. O paracetamol apresentou pico de oxidação em aproximadamente - 0,30 V, havendo um leve deslocamento no seu pico de oxidação com as adições (a..f). Já a fenilefrina e a clorfeniramina mantiveram-se estáveis em relação aos seus picos de oxidação, 0,50 e 0,85 V, respectivamente, sendo o potencial de pico de oxidação da fenilefrina o único que manteve-se estável em todos os eletrodos. Também no eletrodo de GC, a faixa de pH dos três analitos semelhante otimizou o processo de ajuste de pH das soluções.

O método de adição de padrão apresentou-se adequado para a quantificação dos analitos, em amostras comerciais, já que a determinação ocorreu em solução aquosa. Apesar de não ser possível realizar a quantificação de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina simultaneamente (devido interferências entre os três analitos e aos demais excipientes contidos nas formulações farmacêuticas), a determinação sequencial na mesma célula mostrou-se viável devido à facilidade de sua preparação, isentas de solventes tóxicos e da menor complexidade da instrumentação.

Os resultados obtidos neste trabalho, para a quantificação de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, estão em concordância com trabalhos já publicados, utilizando-se as técnicas de referência indicadas pelos compêndios oficiais.^{84,85} Não foi possível obter-se voltamogramas simultâneos dos analitos, devido ao fato de o paracetamol apresentar-se em concentração bem maior em relação à fenilefrina e a clorfeniramina, sendo necessário utilizar-se uma técnica diferente para a quantificação do paracetamol. Além disso, o potencial de pico da fenilefrina e da clorfeniramina são muito próximos, sendo uma leve variação no pH crucial para a determinação de ambos. A sensibilidade do método mostrou-se maior para a quantificação do paracetamol, em solução aquosa, devido ao fato de este analito apresentar-se em maior concentração. Ainda assim, foi possível obter-se facilmente as concentrações de fenilefrina e clorfeniramina, com valores de LD e LQ satisfatórios. De modo geral, o método de adição de padrão apresentou-se como uma boa alternativa às análises de referência, devido à diminuição do tempo de análise, mesmo quando necessárias diferentes faixas de pH. Além disso, o tempo necessário para a aquisição dos resultados é muito menor. O viés ecológico também esteve presente no método proposto, com a isenção de

solventes tóxicos e de difícil descarte ou purificação, assunto que tange o aspecto financeiro.

5.4 Comparação de custos e tempo de análise

Foram realizadas as avaliações comparativas de custos das duas técnicas: a de referência (cromatografia líquida de alta eficiência) e a proposta neste trabalho (voltametria de varredura linear e de pulso diferencial, empregando eletrodos alótropos do carbono). O custo aproximado dos equipamentos e reagentes necessários para a implementação de cada uma das técnicas está exposto na Tabela 16. A fonte de consulta dos valores foi cotação realizada diretamente com o fornecedor.

Tabela 16. Custo comparativo de materiais e reagentes para a cromatografia líquida de alta eficiência e a voltametria linear e de pulso diferencial, utilizando eletrodos CSPE, SWCNT-COOH/CSPE, MWCNT-COOH/CSPE e GC.

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência		Voltametria Linear e de Pulso Diferencial	
Materiais e Reagentes	Custo (R\$)	Materiais e Reagentes	Custo (R\$)
Cromatógrafo líquido de alta eficiência	243.770,06	Potenciostato	60.000,00
Metanol (4L)	70,54	Eletrodo impresso (caixa com 75 unidades)	1.589,36
Acetonitrila (4L)	124,00	Eletrodo de carbono Vítreo	430,00
Padrão de referência paracetamol	2.000,00	Eletrodo de Referência	400,00
Padrão de referência cloridrato de fenilefrina	1.600,00	Contra-Eletrodo	2.000,00
Padrão de referência maleato de clorfeniramina	2.500,00	Fosfato de Potássio (para tampões) (1 Kg)	29,90
		Padrão de referência paracetamol	2.000,00
		Padrão de referência cloridrato de fenilefrina	1.600,00
		Padrão de referência maleato de clorfeniramina	2.500,00
Total	250.064,60	Total	70.579,26

O custo total apresentado é o valor mínimo necessário para implantar cada uma das técnicas para a quantificação de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, em amostras comerciais farmacêuticas. Nesta tabela, não foi contabilizada a variável tempo de análise, porém, a mesma apresentou-se significativamente menor pelo método proposto em relação ao método referência, pois a aquisição dos dados do potenciostato pelo software pode chegar a ser 5 vezes mais rápida do que em relação ao cromatógrafo, mesmo não sendo possível determinar os ativos simultaneamente. Salienta-se que o

método cromatográfico apresenta a automatização, sendo necessária a presença de analista apenas no preparo das amostras. A voltametria, neste caso, apresenta a necessidade da operação minuto a minuto de um analista. Ainda assim, a hora técnica do analista pode ser três vezes menor em relação à técnica referência. Os eletrodos impressos são comercializados, comumente, como descartáveis, porém, na prática, utilizando-se os métodos voltamétricos por adição de padrão, foi possível utilizar cada um dos eletrodos impressos, tanto CSPE, SWCNT-COOH/CSPE e MWCNT-COOH/CSPE para a análise de pelo menos 4 lotes de amostras comerciais. Ressalta-se ainda, não ser necessária a utilização de solventes diferentes da água, para o preparo dos padrões e das amostras comerciais, diminuindo ainda mais o custo de análise, não sendo preciso empregar técnicas de purificação ou então, gasto com tratamento de resíduos

6 CONCLUSÕES

Desenvolveu-se métodos voltamétricos baseados em varredura linear dos potenciais para a quantificação de paracetamol e de pulsos de potenciais para a quantificação de fenilefrina e clorfeniramina, em amostras farmacêuticas comerciais em solução aquosa, utilizando-se diferentes eletrodos alótropos do carbono. Foram obtidas recuperações entre 90,00 a 109,00%, das concentrações indicadas nos rótulos das amostras comerciais do método proposto. A ausência de automação apresenta-se como dificuldade no momento da inclusão da técnica na rotina industrial, porém a redução significativa das variáveis tempo e custo de análise, em relação ao método de referência, a longo prazo, proporcionam ganhos no âmbito geral da indústria.

Devido ao fato de as formulações farmacêuticas antigripais apresentarem um grande número de excipientes e juntamente a isso, o pH ácido característico dos próprios analitos, o método proposto utilizando-se os eletrodos SWCNT-COOH/CSPE, MWCNT-COOH/CSPE e GC permitiram otimização no acerto do pH das soluções estudadas, já que as mesmas encontraram-se em faixas de pH próximas, contribuindo para a diminuição do tempo de análise. Nos estudos utilizando-se o eletrodo CSPE, o acerto do pH das soluções apresentou-se como maior dificuldade, porém os mesmos apresentaram efetividade das quantificações dos analitos e, ainda assim, a variável tempo apresentou-se menor em relação à técnica de referência.

Em linhas gerais, todos os eletrodos alótropos do carbono testados demonstraram-se efetivos para a quantificação de paracetamol, fenilefrina e clorfeniramina, em solução aquosa. Os eletrodos impressos apresentaram maior facilidade na montagem do aparato, devido sua configuração em único suporte, que otimiza e diminui a análise em si. Porém, o eletrodo GC proporcionou os menores valores de LD e LQ para a fenilefrina e a clorfeniramina.

Além da menor complexidade da aparelhagem analítica, de menor custo, a possibilidade de utilizar soluções aquosas, aliada à otimização do trabalho e geração de uma quantidade menor de resíduos, foi possível obter diminuição dos custos com a análise, desde a aquisição dos materiais e equipamentos, até a possibilidade de um maior número de análises, em menor tempo.

7 REFERÊNCIAS

1. Brunton, L. L.; Goodman e Gilman's the pharmacological basis of therapeutics; McGraw-Hill: Nova York, 2007.
2. ANVISA, Bulas Farmacêuticas, <http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=9651232015&pIdAnexo=2930104> Acesso em 24 de fevereiro de 2018.
3. The United States Pharmacopeia, The United States Pharmacopeial Convention, Inc.; Rockville: Rockville, 1985.
4. Lourenção, B. C.; Medeiros, R., A.; Rocha-Filho, R. C.; Mazo, L. H.; Fatibello-Filho, O. Simultaneous voltammetric determination of paracetamol and caffeine in pharmaceutical formulations using a boron-doped diamond electrode. *Talanta*, **2009**, 78, pg. 748-752.
5. Eisele, A. P. P.; Clausen, D. N.; Tarley, C. R. T.; Dall'Antonia, L. H.; Sartori, E. R. Simultaneous square-wave voltammetric determination of paracetamol, caffeine and orphenadrine in pharmaceutical formulations using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. *Electroanalysis*, **2013**, 25, pg. 1737-1741.
6. Lima, A. B.; Torres, L. M. F. C.; Guimarães, C. F. R. C.; Verly, R. M.; da Silva, L. M.; Júnior, A. D. C.; Santos, W. T. P. S. Simultaneous determination of paracetamol and ibuprofen in pharmaceutical samples by differential pulse voltammetry using a boron-doped diamond electrode. *J. Braz. Chem. Soc.* **2014**, 25, pg. 478-483.
7. Santos, A. M.; Vicentini, F. C.; Deroco, P. B.; Rocha-Filho, R. C.; Fatibello-Filho, O. Square-wave voltammetric determination of paracetamol and codeine in pharmaceutical and human body fluid samples using cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. *J. Braz. Chem. Soc.*, **2015**, 26, pg. 2159-2168.
8. Pacheco, W. F.; Semaan, F. S.; Almeida, V. G. K.; Ritta, A. G. A. L.; Aucélio, R. Q. Voltametrias: uma breve revisão sobre os conceitos. *Rev. Virtual Quím.*, **2013**, 5, pg. 516-537.
9. Sá, L. Z. C. M. Determinação eletroanalítica e espectrofotométrica da atividade antioxidante de fermentados de jabuticaba e vinhos de diferentes procedências. Dissertação de Mestrado, 2013, Goiânia, p. 27.

10. Hans, H.; Pharmacokinetic considerations of common analgesics and antipyretics. *Am. J. Med.* **1983**, *75*, pg. 30-37.
11. Brunton, L. L.; Lazo, J. L.; Parker, K. L. *Goodman e Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. McGraw-Hill: Nova York, 2006.
12. Connors, K. A.; Amidon, G. L.; Stella, V. J.; Chemical stability of pharmaceuticals: a handbook for pharmacists. John Wiley: New York, 1986.
13. Bergan, K.; Muller, L.; Teigwn, S. W. Series: current issues in mutagenesis and carcinogenesis. The genotoxicity and carcinogenicity of paracetamol: a regulatory (re)view. *Mutat. Res.* **1996**, *349*, pg. 2.
14. Bosch, M. E.; Sanchez, A. J. R.; Rojas, F. S.; Ojeda, C. B. Determination of paracetamol: historical evolution. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2006**, *42*, pg. 2.
15. Kisely, S. R.; Lawrence, D.; Preston, N. J. The effect of recalling paracetamol on hospital admissions for poisoning in Western Australia. *Med. J. Aust.* **2003**, *178*, pg. 2.
16. ANVISA – Informe SNVS nº 2. <<http://www.anvisa.gov.br>> Acesso em 17 de fevereiro de 2018.
17. Heath, P.; Geiter, C. W. Use of phenylephrine hydrochloride (Neo-Syneohrine Hydrochloride) in ophthalmology. *Arch. Ophthalmol.* **1949**, *41*, pg. 172-177.
18. Kumar, V.; Schoenwald, R. D.; Barcellos, W. A.; Chien, D. S.; Folk, J. C.; Weingeist, T. A. Aqueous vs viscous phenylephrine systemic absorption and cardiovascular effects. *Arch. Ophthalmol.* **1986**, *104*, pg. 1189-1191.
19. Criado, P. R.; Maruta, C. W.; Criado, R. F. J.; Filho, C. A. M. Histamine, histamine receptors and antihistamines: new concepts. *An. Bras. Dermatol.* **2010**, *85*, pg. 2.
20. Simons, F. E. R. Comparative pharmacology of H1 antihistamines: clinical relevance. *Am. J. Med.* **2002**, *113*, pg. 9.
21. Balbani, A. P. S.; Caniello, M.; Miyakel, M. A. M.; Júnior, J. F. M.; Butugan, O. Rinites e anti-histamínicos: impacto na cognição e psicomotricidade. *Rev. Bras. Alerg. Imunopatol.* **2001**, *24*, pg. 3.
22. Bose, D.; Durgbanshi, A.; Martinanavarro-Dominguez, A.; Capella-Peiro, M.E.; Carda-Broch, S.; Esteve-Romero, J. S.; Gil-Agusti, M. T. Rapid determination of acetaminophen in physiological fluids by liquid chromatography using SDS mobile phase and ED detection. *J. Chromatogr. Sci.* **2005**, *43*, pg. 6.

23. Fujino, H.; Yoshida, H.; Nohta, H.; Yamaguchi, M. HPLC determination of acetaminophen in saliva based on precolumn fluorescence derivatization with 12-(3,5-dichloro-2,4,6-triazinyl)benzo[d]benzo[1'2'-6,5]isoindolo[1,2-2][1,3]thiazolidine. *Anal. Sci.* **2005**, *21*, pg. 9.
24. Jensen, L. S.; Valentine, J.; Milne, R. W.; Evans, A. M. The quantification of paracetamol, paracetamol glucuronide and paracetamol sulphate in plasma and urine using a single high-performance liquid chromatography assay. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2004**, *34*, pg. 3.
25. Martinez-Algaba, C.; Bermudez-Saldana, J. M.; Villanueva-Camanas, R. M.; Sagrado, S.; Medina-Hernandez, M. J. Analysis of pharmaceutical preparations containing antihistamine drugs by micellar liquid chromatography. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2006**, *40*, pg. 2.
26. Mcevoy, E.; Donegan, S.; Power, J.; Altria, K. Optimisation and validation of a rapid and efficient microemulsion liquid chromatographic (MELC) method for the determination of paracetamol (acetaminophen) content in a suppository formulation. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2007**, *44*, pg. 1.
27. Llorent-Martinez, E. J.; Satinsky, D.; Solich, P.; Ortega-Barrales, P.; Molina-Diaz, A. Fluorimetric SIA optosensing in pharmaceutical analysis: determination of paracetamol. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2007**, *45*, pg. 2.
28. Moreira, A. B.; Oliveira, H. P. M.; Atvars, T. D. Z.; Dias, I. L. T.; Neto, G. O.; Zagatto, E. A.G.; Kubota, L.T. Direct determination of paracetamol in powdered pharmaceutical samples by fluorescence spectroscopy. *Anal. Chim. Acta.* **2005**, *539*, pg. 1-2.
29. Abdel-Wadood, H. M.; Mohamed, N. A.; Mohamed, F. A. Spectrofluorimetric determination of acetaminophen with N-bromosuccinimide. *J. AOAC Int.* **2005**, *88*, pg. 6.
30. Dejaegher, B.; Bloomfield, M.S.; Smeyers-Verbeke, J.; Heyden, Y. V. Validation of fluorimetric assay for 4-aminophenol in paracetamol formulations. *Talanta.* **2008**, *75*, pg. 1.
31. Ruengsitagoon, W.; Liawruangrath, S.; Townshend, A. Flow injection chemiluminescence determination of paracetamol. *Talanta.* **2006**, *69*, pg. 4.

32. Zhao, S. L.; Bai, W. L.; Yuan, H. Y.; Xiao, D. Detection of paracetamol by capillary electrophoresis with chemiluminescence detection. *Anal. Chim. Acta.* **2006**, *559*, pg. 2.
33. Filik, H.; Sener, I.; Cekic, S. D.; Kilic, E.; Apak, R. Spectrophotometric determination of paracetamol in urine with tetrahydroxycalix[4]arene as a coupling reagent and preconcentration with triton X-114 using cloud point extraction. *Chem. Pharm. Bull.* **2006**, *54*, pg. 6.
34. Sirajuddin, Khaskheli, A. R.; Shah, A.; Bhangar, M. L.; Niaz, A.; Mahesar, S. Simpler spectrophotometric assay of paracetamol in tablets and urine samples. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2007**, *68*, pg. 747-751.
35. Navarro, I.; Gonzalezarjona, D.; Roldan, E.; Rueda, M. Determination of paracetamol in tablets and blood plasma by differential pulse voltammetry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1988**, *6*, pg. 6-8.
36. Vieira, I. C.; Lupetti, K. O.; Fatibello-Filho, O. Determination of paracetamol in pharmaceutical products using a carbon paste biosensor modified crude extract of zucchini (*Cucurbita pepo*). *Quím. Nova.* **2003**, *26*, pg. 1.
37. Christie, I.; Leeds, S.; Baker, M.; Keedy, F.; Vadgama, P. Direct electrochemical determination of paracetamol in plasma. *Anal. Chim. Acta.* **1993**, *272*, pg. 1.
38. Shangguan, X. D.; Zhang, H. F.; Zheng, J. B. Electrochemical behavior and differential pulse voltammetric determination of paracetamol at a carbon ionic liquid electrode. *Anal. Bioanal. Chem.* **2008**, *391*, pg. 3.
39. Goyal, R. N.; Singh, S. P. Voltammetric determination of paracetamol at C-60-modified glassy carbon electrode. *Electrochim. Acta.* **2006**, *51*, pg. 15.
40. Wang, C. H.; Li, C. Y.; Wang, F.; Wang, C. F. Covalent modification of glassy carbon electrode with L-cysteine for the determination of acetaminophen. *Microchim. Acta.* **2006**, *155*, pg. 3-4.
41. Wang, S. F.; Xie, F.; Hu, R. F. Carbon-coated nickel magnetic nanoparticles modified electrodes as a sensor for determination of acetaminophen. *Sens. Actuators B Chem.* **2007**, *123*, pg. 1.
42. Dewani, A. P.; Barik, B. B.; Chipade, V. D.; Bakal, R. L.; Chandewar, A. V.; Kanungo, S. K. RP-HPLC-DAD method for the determination of phenylephrine, paracetamol, caffeine and chlorpheniramine in bulk and marketed formulation. *Arab. J. Chem.* **2014**, *7*, pg. 5.

43. Redasani, V. K.; Gorle, A. P.; Badhan, R. A.; Jain, P. S.; Surana, S. J. Simultaneous determination of chlorpheniramine maleate, phenylephrine hydrochloride, paracetamol and caffeine in pharmaceutical preparation by RP-HPLC. *Chem Ind Chem Eng Quar.* **2013**, 19, pg. 57 - 65.
44. Huang, F.; Jin, G.; Liu, Y.; Kong, J. Sensitive determination of phenylephrine and chlorprothixene at poly(4-aminobenzene sulfonic acid) modified glassy carbon electrode. *Talanta*, **2008**, 74, pg. 1435 - 1441.
45. Zhu, Y.; Zhang, Z.; Zhao, Z.; Pang, D. Voltammetric behavior and determination of phenylephrine at a glassy carbon electrode modified with multi-wall carbon nanotubes. *Sens Actuat B Chem*, **2006**, 119, pg. 308-314.
46. Onur, F. Simultaneous determination of pseudoephedrine sulfate, dexbrompheniramine maleate and loratadine in pharmaceutical preparations using derivative spectrophotometry and ratio spectra derivative spectrophotometry. *Talanta*. **2000**, 51, pg. 2.
47. Palabiyik, Í. M.; Dinç, E.; Onur, F. Simultaneous spectrophotometric determination of pseudoephedrine hydrochloride and ibuprofen in a pharmaceutical preparation using ratio spectra derivative spectrophotometry and multivariate calibration techniques. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2004**, 34, pg. 473-483.
48. Martens, J. Determination of loratadine and pheniramine from human serum by gas chromatography-mass spectrometry *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.* **1995**, 673, pg. 2.
49. Phatthiyaphaibun, K.; Som-Aum, W.; Srisa-ard, M.; Threeprom, J. Chiral separation of pheniramine by capillary electrophoresis partial-filling technique using hydroxypropyl- β -cyclodextrin as chiral selector. *Anal. Chem.* **2010**, 65, pg. 8.
50. Lamani, S. D.; Hedge, R. N.; Savanur, A. P, Nandibewoor, S. T. Voltammetric determination of chlorpheniramine maleate based on the enhancement effect of sodium-dodecyl sulfate at carbon paste electrode. *Electroanalysis*. **2011**, 23, pg. 2.
51. Van Benschoten, J. J; Lewis, J. Y.; Heineman, W. R.; Roston, D. A.; Kissinger, P.T. Cyclic voltammetry. *J. Chem. Educ.* **1983**, 60, pg. 9.

52. Zhou, Q.; Zhai, H. Y.; Pan, Y. F. Degradation of folic acid wastewater by electro-Fenton with three-dimensional electrode and its kinetic study *R Soc Open Sci*, **2018**, *5*, pg. 1-8.
53. Leandro, K. C.; de Carvalho, J. M.; Giovanelli, L. F.; Moreira, J. C. Development and validation of an electroanalytical methodology for determination of isoniazid and rifampicin content in pharmaceutical formulations. *Braz J Pharm Sci*, **2009**, *45*, pg. 331-337.
54. Lima, A. B.; Torres, L. M. F. C.; Guimarães, C. F. R. C.; Verly, R. M.; da Silva, L. M.; Júnior, A. D. C.; Santos, W. T. P. S. Simultaneous determination of paracetamol and ibuprofen in pharmaceutical samples by differential pulse voltammetry using a boron-doped diamond electrode. *J Braz Chem Soc*, **2014**, *25*, pg. 478-483.
55. Dos Santos, S. M. V.; Oliveira, P. R.; Oliveira, M. C.; Bergamini, M. F.; Marcolino Júnior, L. H. Eletrodos impressos construídos por serigrafia utilizando negro de fumo como material condutor. *Rev Virt Química*, **2017**, *9*, pg. 626-640.
56. Skoog, D. A.; West, D. M.; Holler, F. J.; Stanley, R. C. Fundamentos da Química Analítica. Ed. Thomson: São Paulo, 2007.
57. FURG, Polarografia, <https://sistemas.furg.br/sistemas/sab/arquivos/bdtd/tde_arquivos/7/TDE-2007-10-01T112910Z-56/Publico/10%20Capitulo%20.pdf>. Acesso em 14 de Janeiro de 2019.
58. Villanueva, A. E. L. Produção de novos materiais carbonáceos por altas pressões, 2003, 84f. Dissertação (Mestrado em Física) – Instituto de Física da UFRGS, POA, 2003.
59. Ferrari, E. P.; Rezende, M. C.; Carbono Polimérico: Processamento e aplicação. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, **1998**, *8*, pg. 22-30.
60. Noda, T.; Inagaki, M.; Yamada, S. Glass-like Carbons. *J Non-Cryst Solids*, v. 1, pg. 285-302, 1969.
61. Silva, L. F.; Preparação, caracterização e aplicação de carbono polimérico vítreo em sensores eletroquímicos, 2007. 123 f. Dissertação (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2007.
62. Sokolovicz, Y. C. A.; Schrekker, C. M. L.; Hild, F.; Bodo, L. O.; Couto, J. L.; Klitzke, J. S.; Maraschin, T.; Basso, N. R.; Dos Santos, J. H. Z.; Dagonne, S.;

- Schrekker, H. S. Organometallic-catalyzed synthesis of high molecular weight poly-(L-lactic acid) with a covalently attached imidazolium salt: performance-enhanced reduced graphene oxide-PLLA biomaterials. *New J Chem*, **2019**, v. 00, pg. 1-3.
63. O’Keefe, B. J.; Hillmyer, M. A.; Tolman, W. B. Polymerization of lactide and related cyclic esters by discrete metal complexes. *J Chem Soc*, **2001**, pg. 2215-2224.
64. Chen, P.; Wang, Y.; Wej, T.; Meng, Z.; Jia, X.; Xi, K. Greatly enhanced mechanical properties and heat distortion resistance of poly-(L-lactic acid) upon compositing with functionalized reduced graphene oxide. *J Mater chem A*, **2013**, *1*, pg. 9028-9032.
65. Yang, J. H.; Lin, S. H.; Lee, Y. D. Preparation and characterization of poly-(L-lactide)-graphene composites using the *in situ* ring-opening polymerization of PLLA with graphene as the initiator. *J Mater Chem*, **2012**, *22*, pg. 10805-10815.
66. Xu, P.; Cui, Z. P.; Ruan, G.; Ding, Y. S. Enhanced crystallization kinetics of PLLA by ethoxycarbonyl ionic liquid modified graphene. *Chinese J Polym Sci*, **2019**, *37*, pg. 243-252.
67. Wang, H.; Qiu, Z. Crystallization behaviors of biodegradable poly(L-lactic acid)/graphene oxide nanocomposites from the amorphous state. *Thermochim Acta*, **2011**, *526*, pg. 229-236.
68. Hart, J. P.; Wring, S. A. Screen-printed voltammetric and amperometric electrochemical sensors for decentralized testing. *Electroanalysis*, **1994**, *6*, 617.
69. Nascimento, V. B.; Angnes, L. Eletrodos fabricados por “silk-screen”. *Quím. Nova*, **1998**, *21*, pg. 614-629.
70. Gai, M.; Frueh, J.; Sukhorukov, G. B.; Girard-Egrot, A.; Rebaud, S.; Doumeche, B.; He, Q. Microcontact printing of polyelectrolyte multilayer thin films: glass-viscous flow transition based effects and hydration methods. *Physicochem and Eng Aspects*, **2015**, *483*, pg. 271.
71. Man, Y.; Chen, Z.; Zhang, Y.; Guo, P.; *J Alloy Compd*, **2015**, *650*, pg. 86.
72. Pavinatto, F. J.; Paschoal, C. W. A.; Arias, A. C. Printed and flexible biosensor for antioxidants using interdigitated ink-jetted electrodes and gravure-deposited active layer. *Biosens Bioelectron*, **2015**, *67*, pg. 553.

73. Soltani, N.; Haddadi, H.; Asgari, M.; Rajabzadeh, N. Adsorptive stripping voltammetric detection of thorium on the multi-walled carbon nanotube modified screen printed electrode. *Sensor Actuat B-Chem*, **2015**, *220*, pg. 1212.
74. Albareda-Sirvent, M.; Merkoçi, A.; Alegret, S. Configurations used in the design of screen-printed enzymatic biosensors. A review. *Sens Actuat B Chem*, **2000**, *69*, pg. 153.
75. Hart, J. P.; Wrings, S. A. Recent developments in the design and application of screen-printed electrochemical sensors for biomedical, environmental and industrial analyses. *Trends Analyt Chem*, **1997**, *16*, pg. 89.
76. Alonso-Lomillo, M. A.; Domínguez-Renedo, O.; Arcos-Martínez, M. J. Screen-printed biosensors in microbiology; a review. *Talanta*, **2010**, *82*, pg. 1629.
77. Zhang, H.; Gao, M.; Yang, X. Electrochemical oxidation and detection of paeonol on modified electrode with acetylene black nanoparticles. *Colloids Surf B Biointerfaces*, **2011**, *87*, pg. 378.
78. Chemkeys, Voltametria: Conceitos e Técnicas, <<http://usuarios.upf.br/~gobbi/CADA%20UMA%20DAS%20DISCIPLINAS/QUIMICA%20ANALITICA%20INSTRUMENTAL/voltametria-vf.pdf>>. Acesso em 09 de Janeiro de 2019.
79. Shetti, N.; Nayak, D. Electrochemical detection of chlorpheniramine maleate in the presence of na anionic surfactant and its analytical applications, *Can J Chem*, **2017**, *95*, pg. 1–26.
80. Kang, X.; Wang, J.; Wu, H.; Liu, J.; Aksay, I.; Lin, Y. A grapheme-based electrochemical sensor for sensitive detection of paracetamol. *Talanta*, **2010**, *81*, pg. 754–759.
81. Anvisa, <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/260946/monografias3.pdf/50bcb1ab-3396-4812-8b05-4e1561059e74>>. Acesso em 13 de Julho de 2019.
82. USP Pharmacopeia, <http://ftp.uspbpep.com/v29240/usp29nf24s0_m64170.html>. Acesso em 13 de Julho de 2019.
83. USP Pharmacopeia, <http://www.uspbpep.com/usp31/v31261/usp31nf26s1_m16514.asp>. Acesso em 13 de Julho de 2019>. Acesso em 13 de Julho de 2019.

84. Bastos, C. A.; Otimização de metodologia por cromatografia líquida de fase reversa por pareamento iônico para análise simultânea de paracetamol, fenilefrina e maleato de carbinoxamina em formulações farmacêuticas. Dissertação de Mestrado, 2008, Juiz de Fora, 61.
85. Joaquín, J. S.; Arroyo, G. A. Desarrollo y validacion de uma metodologia analítica por hplc para La cuantificación simultânea de fenilefrina clorhidrato, paracetamol, salicilamida, cafeína y clorfeniramina maleato em tabletas. *Rev Soc Quím Perú*, **2016**, 82, pg. 196–207.
86. Stilgrip: paracetamol, clorfeniramina, fenilefrina. Responsável Técnico: Márcia Cruz Valiati. Rio Grande do Sul: Kley Hertz Farmacêutica S/A, 2017. Bula de remédio.