UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
GRUPO DE ELETROQUÍMICA E CORROSÃO

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ELETROANALÍTICA PARA A DETERMINAÇÃO DE HALOPERIDOL EM FORMULAÇÕES COMERCIAIS

Francisco Wirley Paulino Ribeiro

Dissertação de Mestrado submetida à Comissão Julgadora do Curso de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como um dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química Analítica.

Orientadora: Prof. Dra. Adriana Nunes Correia

Fortaleza – CE
Agosto de 2010

Francisco Wirley Paulino Ribeiro

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ELETROANALÍTICA PARA A DETERMINAÇÃO DE HALOPERIDOL EM FORMULAÇÕES COMERCIAIS

Dissertação de Mestrado submetida à Comissão Julgadora do Curso de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como um dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química Analítica.

Orientadora: Prof. Dra. Adriana Nunes Correia

Fortaleza – CE
Agosto de 2010

R369d Ribeiro, Francisco Wirley Paulino

Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para a determinação de haloperidol em formulações comerciais / Francisco Wirley Paulino Ribeiro. -- Fortaleza, 2010.

61 f.; il. color. enc.

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Nunes Correia

Área de Concentração: Química Analítica

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Departamento de Química Analítica e Físico-Química, Fortaleza, 2010.

1. Química analítica. 2. Haloperidol. 3. Eletrodo de gota pendente de mercúrio. I. Correia, Adriana Nunes (Orient.). II. Universidade Federal do Ceará – Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDD 540

Esta Dissertação foi aprovada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Química, área de concentração Química Analítica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca de Ciências e Tecnologia/UFC encontra-se à disposição dos interessados.

Francisco Wirley Paulino Ribeiro

Francisco Wirley Paulino Ribeiro

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 23/07/2010

EXAMINADORES:

Adriana Nunes Correia

Profa. Dra. Adriana Nunes Correia
Universidade Federal do Ceará – UFC

Pedro de Lima Neto

Prof. Dr. Pedro de Lima Neto
Universidade Federal do Ceará – UFC

Djenaine de Souza

Dra. Djenaine de Souza
Universidade Federal do Ceará -DQAFQ/UFC

Dedico este trabalho à minha amada esposa
Tatiane Santos Rocha Ribeiro por todo seu
Amor, incentivo, carinho e atenção
Oferecidos a mim espontaneamente.

Eu vou até o fim por causa deste Amor...

Agradecimentos

Ao SENHOR DEUS por ter sido fiel em minha vida e por nunca ter me deixado só, tanto em dias bons como em dias de grandes tempestades. Por ter feito por mim o que ninguém neste mundo poderia fazer. (Então, respondeu Jó ao SENHOR e disse: Bem sei eu que tudo podes, e nenhum dos teus pensamentos pode ser impedido. Jó 42.1,2).

À minha esposa, Tatiane Santos Rocha Ribeiro por confiar, acreditar em mim e por ser a maior incentivadora para que eu pudesse ter chegado até aqui e por continuar me apoiando para seguir em frente.

Aos meus pais, Eliane e Arlei que me transmitiram ensinamentos que poderei levar pela vida inteira.

À minha irmã Arlene e ao meu sobrinho Carlos Ray que me fizeram sentir como um pai.

À Profa. Dra. Adriana Nunes Correia, pela orientação, oportunidade, ajuda e confiança a mim concedida. Sempre serei grato, pois viu meus passos, conhece um pouco da minha história, da minha luta e pelos bons conselhos dados.

Ao Prof. Dr. Pedro de Lima Neto por ter me recebido no GELCORR e por todos os ensinamentos transmitidos ao longo destes anos, pois até a presente data foi meu professor por 5 semestres.

Ao Prof. Dr. Sergio Antonio Spinola Machado, que sempre esteve disponível para o esclarecimento de dúvidas.

À Dra. Djenaine de Souza por todas as lições sobre Eletroanalítica.

À Prof. Dra. Janete Eliza Soares de Lima pelo fornecimento da amostra padrão de haloperidol e pela contribuição fornecida no Exame Geral de Conhecimento.

À Prof. Dra. Gisele Simone Lopes por suas valorosas sugestões.

Ao Laboratório de Química Ambiental e em especial à Profa. Dra. Helena Becker pelas medidas de UV-Vis.

Ao amigo Tércio por ter me fornecido artigos de difícil acesso.

A todos os meus professores da graduação que contribuíram para minha formação.

Ao professor Francisco José Martins Filho por ter me incentivado, à sua mãe Dona Liduína e à sua irmã Mariana por terem me recebido como uma pessoa da família na época do pré-vestibular.

A todos os amigos que conheci no GELCORR: Alan, Allan Nilson, Amanda, Andressa, Alexsander, Célia, Cristiane, Fernandes, Gerson, Gisele, Gustavo, Josenir, Júnior, Leandro, Luanna, Nathalie, Othon, Naftali, Lemuel, Milton, Moisés, Rafael, Regilany, Régis, Roger, Sâmeque, Sanderlir, Thiago, Thisiania e Vanessa, que me receberam como um irmão e que me apoiaram de várias formas.

Aos meus colegas de turma da graduação, que são bons amigos: J.Junior, Leandro, Paulo, Luciana, Barbara, Cleane e Gilmara.

A todos os meus irmãos na fé da Assembleia de Deus que sempre oraram por mim.

Aos Presbíteros José Levi, Moises Bezerra e Francisco Soares que sempre me ensinaram a confiar no Senhor em todos os momentos e a andar conforme ensina a palavra de Deus.

À amiga e quase mãe Antonieta por ter sido a pessoa que muito ajudou a mim e à minha família.

Ao amigo David que é pra mim como um irmão.

A todos os meus familiares e amigos, que de alguma forma me apoiaram.

Filho meu, não te esqueças da minha lei, e o teu coração guarde os meus mandamentos. Porque eles aumentarão os teus dias e te acrescentarão anos de vida e paz. Não te desamparem a benignidade e a fidelidade; ata-as ao teu pescoço; escreve-as na tábua do teu coração. E acharás graça e bom entendimento aos olhos de teu DEUS e do homem. Confia no SENHOR de todo o teu coração, e não te estribes no teu próprio entendimento. Reconhece-o em todos os teus caminhos, e Ele endireitará as tuas veredas. Não seja sábio a teus próprios olhos; teme ao SENHOR e aparta-te do mal.

Provérbios 3.1-7

Sonhe! Ouse sonhar!
Você nunca irá além dos seus sonhos.

Pr. Marcos Feliciano

Senhor, eu venho agora te agradecer por tudo
o que o senhor me fez saber são coisas que
eu nunca merecia
Senhor, aceite essa humilde canção que sai do
fundo do meu coração e ofereço inteiramente
para ti Senhor
Senhor, com lágrimas saindo dos meus olhos
eu passo a pensar no que eu era
e volto a pensar no que tu fez por mim
Senhor, eu sei que tu mudaste a minha vida
pois quando eu não achava uma saída
o caminho certo me mostrou...

Nelson e Valmir

Se as águas do mar da vida, quiserem te afogar
Segura na mão de Deus e vai
Se as tristezas desta lida, quiserem te sufocar
Segura na mão de Deus e vai

Segura na mão de Deus, segura na mão de Deus
Pois ela, ela te sustentará
Não temas, segue adiante, e não olhes para trás
Segura na mão de Deus e vai...

Nelson Monteiro da Mota

SUMÁRIO

RESUMO..... xi
ABSTRACT..... xii
LISTA DE FIGURAS……..... xiii
LISTA DE TABELAS…… xvi

1. INTRODUÇÃO..... 1
1.1 Antipsicóticos..... 2
1.2 Butirofenonas..... 3
1.3 Haloperidol..... 4
1.4 Determinação analítica de haloperidol..... 6
1.5 Determinação eletroanalítica de haloperidol..... 9
2. OBJETIVOS..... 12
2.1 Objetivo geral..... 12
2.2 Objetivos específicos..... 12
3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL..... 13
3.1 Reagentes e Soluções..... 13
3.1.1Reagentes..... 13
3.1.2 Soluções..... 13
3.1.2.1 Solução tampão..... 13
3.1.2.2 Solução estoque de Haloperidol..... 13
3.1.2.3 Solução estoque da formulação comprimido Haldol®..... 14
3.1.2.4 Solução estoque da formulação solução oral de Haldol®..... 14
3.2 Instrumentação..... 14
3.2.1 Eletrodos..... 15
3.2.1.1 Eletrodo de trabalho..... 15
3.2.1.2 Eletrodo de referência..... 15
3.2.1.3 Eletrodo auxiliar..... 15
3.2.2 Sistema eletroquímico..... 15
3.3 Metodologia..... 15
3.3.1 Voltametria cíclica..... 15
3.3.2 Voltametria de onda quadrada..... 16
3.3.3 Espectrofotometria de absorção na região do UV-Vis..... 16

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 17
4.1 Comportamento eletroquímico..... 17
4.1.2 Influência da velocidade de varredura..... 19
4.2 Influência do pH do meio..... 22
4.3 Voltametria de onda quadrada..... 24
4.3.1 Componentes de corrente..... 25
4.3.2 Estudo dos parâmetros da voltametria de onda quadrada..... 26
4.3.2.1 Frequência dos pulsos de potencial..... 26
4.3.2.2 Amplitude dos pulsos de potencial..... 28
4.3.2.3 Incremento de potencial..... 30
4.5 Construção da curva analítica..... 32
4.6 Estudos de recuperação..... 36
4.6.1 Aplicação do procedimento em amostras comerciais..... 39
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 43
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 44

RESUMO

O presente trabalho descreve o desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica para determinação de haloperidol (HP) em formulações comerciais, empregando eletrodo de gota pendente de mercúrio (HMDE) aliado a Voltametria de Onda Quadrada (SWV). O eletrólito empregado foi o tampão Britton-Robbinson (BR) 0,04 mol L^{-1} ajustado com NaOH 0,2 mol L^{-1} para valores de pH variando no intervalo de 2,0 a 12,0. Inicialmente, o comportamento eletroquímico do HP sobre HMDE em meio de tampão BR pH 10,0 foi estudado empregando voltametria cíclica com v = 20 mV s^{-1}. Foi observada a presença de um pré-pico de adsorção em torno de -1,1 V e um processo de redução irreversível em torno de -1,55 V *versus* Ag/AgCl/Cl^- (KCl saturado). O potencial de pico para o processo de redução foi influenciado pela variação do pH do meio, uma vez que apresentou deslocamento para valores mais negativos com aumento do pH, indicando a participação de prótons na reação. A maior sensibilidade analítica foi obtida em pH 10,0. Os parâmetros da SWV selecionados para o desenvolvimento do procedimento eletroanalítico foram: f = 100 s^{-1}, a = 30 mV e ΔE_s = 2 mV. Após estabelecimento das melhores condições para determinação de HP, curvas analíticas foram obtidas no intervalo de concentração de $2{,}49 \times 10^{-7}$ a $3{,}38 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} (r = 0,9990), e os limites de detecção e de quantificação calculados foram $4{,}75 \times 10^{-9}$ mol L^{-1} (1,78 µg L^{-1}) e $1{,}58 \times 10^{-8}$ mol L^{-1} (5,94 µg L^{-1}), respectivamente. Estes valores foram comparados com aqueles obtidos pelo método espectrofotométrico recomendado pela Farmacopéia Britânica, onde foi obtido $7{,}32 \times 10^{-8}$ mol L^{-1} (27,51 µg L^{-1}) para o limite de detecção e $2{,}44 \times 10^{-7}$ mol L^{-1} (91,71 µg L^{-1}) para o limite de quantificação, onde foi possível verificar que maior sensibilidade foi obtida pela metodologia eletroanalítica. A repetibilidade e reprodutibilidade do procedimento proposto foram avaliadas, com os valores de desvio padrão relativo (RSD) obtidos sendo 1,89% e 2,33%, respectivamente, evidenciando boa precisão da metodologia. O percentual médio de recuperação em eletrólito foi de 106,18% (RSD = 0,75%). A metodologia eletroanalítica foi aplicado em formulações comercias de comprimidos e solução oral de Haldol®. O percentual médio de recuperação obtido para a apresentação comprimido foi 89,32% (RSD = 4,48%), enquanto que para a apresentação solução oral foi de 100,61% (RSD = 3,96%).

Palavras-chaves: Haloperidol, Eletrodo de gota pendente de mercúrio, Voltametria de onda quadrada, Formulações comerciais.

ABSTRACT

The present work describes the development of an electroanalytical methodology for haloperidol (HP) determination in commercial formulations, using Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE) allied to the Square Wave Voltammetry (SWV). The electrolyte used was 0.04 mol L^{-1} Britton-Robbinson buffer (BR) ranging from 2 to 12. Solution pH was adjusted for desired value by adding appropriate amounts of 0.2 mol L^{-1} NaOH. Initially, the electrochemical behavior of HP on HMDE in BR buffer pH 10.0 was studied using cyclic voltammetry at 20 mV s^{-1}. It was observed the presence of a pre-adsorption peak around -1.1 V and an irreversible reduction process around -1.55 V versus Ag/AgCl/Cl^- (KCl saturated). The peak potential for the reduction process was changed when the pH values was increases, there is a indicative that the protons participation in the redox reaction. Most analytical sensitivity was obtained at pH 10.0. The parameters of the selected SWV to the development of electroanalytical methodology were: f = 100 s^{-1}, a = 30 mV e ΔE_s = 2 mV. After establishing the best conditions for HP determination, analytical curves were obtained in concentration range from 2.49 x10^{-7} to 3.38 x10^{-6} mol L^{-1} (r = 0.9990), the detection and quantification limits were 4.75 x10^{-9} mol L^{-1}(1.78 µg L^{-1}) and 1.58 x10^{-8} mol L^{-1} (5.94 µg L^{-1}), respectively. These values were compared with those obtained by the spectrophotometric method recommended by the British Pharmacopoeia, which presented values of DL 7.32 x10^{-8} mol L^{-1} (27.51 µg L^{-1}) and QL of 2.44 x10^{-7} mol L^{-1} (91.71 µg L^{-1}). These results suggest a greater sensitivity of the electroanalytical methodogy. The repeatability and reproducibility were evaluated, with the calculous of the relative standard deviation (RSD) were equal to 1.89 % and 2.33 %, respectively, demonstrating the good precision of the methodology. The recovery in electrolyte was 106.18 % (RSD = 0.75 %). The electroanalytical procedure was applied to commercial formulations of tablets and oral solutions of Haldol®. The average recovery obtained for the tablets was 89.32 % (RSD = 4.48 %), while for the oral solutions was 100.61 % (RSD = 3.96 %).

Keywords: Haloperidol, Hanging Mercury Drop Electrode, Square-Wave Voltammetry, Commercial Formulations.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: *Representação ilustrativa do mecanismo de ação dos antipsicóticos*..... 2

Figura 2: *Evolução dos compostos butirofenônicos*..... 3

Figura 3: *Estrutura química do haloperidol*..... 4

Figura 4: *Voltamogramas cíclicos de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com velocidade de varredura de 20 mV s^{-1}*..... 17

Figura 5: *Voltamogramas cíclicos de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE a uma velocidade de varredura de 20 mV s^{-1} sem e com o pré-pico de adsorção*..... 18

Figura 6: *Voltamogramas cíclicos de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH10,0 sobre HMDE com velocidades de varredura entre 20 e 500 mV s^{-1}*..... 19

Figura 7: *Relação entre potencial de pico e logaritmo da velocidade de varredura obtida a partir de voltamogramas cíclicos de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com diferentes velocidades de varredura*..... 20

Figura 8: *Relação entre intensidade de corrente de pico e velocidade de varredura obtida a partir de voltamogramas cíclicos de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com diferentes velocidades de varredura*..... 21

Figura 9: *Relação entre logaritmo da corrente de pico e logaritmo da velocidade de varredura obtida a partir de voltamogramas cíclicos de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com diferentes velocidades de varredura*..... 22

Figura 10: *Relação entre potencial de pico e pH obtida a partir dos voltamogramas cíclicos de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR sobre HMDE com velocidade de varredura de 20 mV s^{-1}*..... 23

Figura 11: *Relação entre intensidade da corrente de pico e pH obtida a partir dos voltamogramas cíclicos de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR sobre HMDE com velocidade de varredura de 20 mV s^{-1}*..... 24

Figura 12: *Componentes de corrente obtidas a partir do voltamograma de onda quadrada de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com f = 100 s^{-1}, a = 50 mV e ΔE_s = 2 mV*..... 25

Figura 13: *Voltamogramas de onda quadrada de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE em diferentes frequências dos pulsos de potencial com a = 50 mV e ΔE_s = 2 mV*..... 26

Figura 14: *Relação entre potencial de pico e logaritmo da frequência dos pulsos de potencial obtidos a partir dos voltamogramas de onda quadrada de HP 2,9 x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com a = 50 mV e ΔE_s = 2 mV*..... 27

Figura 15: *Relação entre intensidade da corrente de pico e freqüência de aplicação dos pulsos de potencial obtidos a partir dos voltamogramas de onda quadrada de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com a = 50 mV e ΔE_s = 2 mV*..... 28

Figura 16: *Voltamogramas de onda quadrada de HP 2,9 x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE em diferentes amplitudes dos pulsos de potencial com f = 100 s^{-1} e ΔE_s = 2mV*..... 29

Figura 17: *Relação entre potencial de pico e amplitude dos pulsos de potencial obtida a partir de voltamogramas de onda quadrada de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com f = 100 s^{-1} e ΔE_s = 2 mV*..... 29

Figura 18: *Relação entre intensidade da corrente de pico e amplitude dos pulsos de potencial obtida a partir de voltamogramas de onda quadrada de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com f = 100 s^{-1} e ΔE_s = 2 mV*..... 30

Figura 19: *Voltamogramas de onda quadrada de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE em diferentes incrementos de potencial com f = 100 s^{-1} e a = 50mV*..... 31

Figura 20: *Relação entre intensidade da corrente de pico e incremento de potencial obtida a partir dos voltamogramas de onda quadrada de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com f = 100 s^{-1} e a = 50 mV*..... 31

Figura 21: *Voltamogramas de onda quadrada para HP em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com concentrações variando de 2,49x10^{-7} a 3,38x10^{-6} mol L^{-1} e f = 100 s^{-1}, a = 30 mV e ΔE_s = 2 mV*..... 33

Figura 22: *Curva analítica com as barras de erro obtida para HP em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE obtida no intervalo de concentrações variando de 2,49x10^{-7} a 3,38x10^{-6} mol L^{-1} com f = 100 s^{-1}, a = 30 mV e ΔE_s = 2 mV*..... 33

Figura 23: *A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos em diferentes concentrações para recuperação no eletrólito em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com f = 100 s^{-1}, a = 30 mV e ΔE_s = 2 mV. B) Relação entre corrente de pico e concentração de HP para curva de recuperação em eletrólito* 37

Figuira 24: *A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos em diferentes concentrações para recuperação em amostra de comprimido Haldol® em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com f = 100 s^{-1}, a = 30 mV e ΔE_s = 2 mV. B) Relação entre corrente de pico e concentração de HP para curva de recuperação em amostra de comprimido Haldol®* 39

Figura 25: *A) voltamogramas de onda quadrada obtidos em diferentes concentrações para recuperação em amostra de solução oral Haldol® em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com f = 100 s^{-1}, a = 30 mV e ΔE_s = 2 mV. B) Relação entre corrente de pico e concentração de HP para curva de recuperação em amostra de solução oral Haldol®* 41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: *Procedência dos reagentes analíticos utilizados*..... 13

Tabela 2: *Valores de largura de meia altura encontrados em função da variação do incremento de potencial*..... 32

Tabela 3: *Parâmetros obtidos a partir das curvas analíticas obtidos na determinação de HP empregando voltametria de onda quadrada (SWV) e UV-Vis em eletrólito de suporte*..... 35

Tabela 4: *Resultados de recuperação para HP em eletrólito obtidos por voltametria de onda quadrada sobre HMDE e por UV-vis*..... 38

Tabela 5: *Resultados de recuperação para HP em amostra de comprimido Haldol® obtidos por voltametria de onda quadrada sobre HMDE e por UV-vis*..... 40

Tabela 6: *Resultados de recuperação para HP em amostra de solução oral Haldol® obtidos por voltametria de onda quadrada sobre HMDE e por UV-vis*..... 41

1. INTRODUÇÃO

Um fármaco é qualquer substância utilizada para diagnóstico, alívio, tratamento, prevenção e cura de doenças. Usualmente, a palavra fármaco é destinada a todas as drogas utilizadas na área de Farmácia, que possua ação farmacológica podendo ser definidos como micromoléculas bioativas, que exercem efeitos terapêuticos a partir de interações específicas com um receptor ou uma biomacromolécula[1]. Entretanto, outro exemplo de fármaco são os que afetam a estrutura e/ou o funcionamento do organismo, como os anticoncepcionais orais, que não interferem no processo de uma doença.

Os fármacos são desenvolvidos para serem persistentes, mantendo suas propriedades químicas o suficiente para servir a um propósito terapêutico. Porém, após administração, uma parte significativa da dosagem pode ser excretada na forma inalterada[2]. Neste contexto, a grande utilização de fármacos na medicina humana e veterinária levou a uma grande preocupação a nível mundial, isto porque muitos fármacos e seus metabólitos já foram detectados no meio ambiente. Os fármacos e seus metabólitos já são considerados como representantes de uma nova classe de contaminantes conhecidos pelo nome abrangente de contaminantes emergentes. A preocupação com relação a esta nova classe de contaminantes tem aumentado devido também ao fato de que em todo mundo se tem observado uma redução da quantidade de poluentes convencionais nas águas, tais como, nitratos, metais pesados e outros. Os locais onde já foram registrados a presença dos constituintes desta nova classe de contaminantes foram os mais diversos possíveis, tais como: estações de tratamento de esgoto, águas naturais e águas para consumo[3-5]. Quando o assunto em pauta está relacionado com a contaminação das águas naturais surge uma grande preocupação, pois a água é um dos maiores bens da humanidade, sendo indispensável para a existência de vida no planeta Terra. A contaminação de águas naturais tem sido apontada como um dos maiores problemas da sociedade moderna[6].

Atualmente, existe uma enorme preocupação no desenvolvimento de metodologias analíticas suficientemente sensíveis na determinação de fármacos em ambientes aquáticos, com limites de detecção na ordem de $\mu g\ L^{-1}$ a $ng\ L^{-1}$, pois, vários estudos sobre a contaminação de diferentes ambientes aquáticos por fármacos revelam que estes contaminantes estão presentes nestas faixas[2]. A literatura reporta que vários métodos são empregados para determinação de contaminantes emergentes, e.g. métodos cromatográficos, usualmente combinados com espectrometria de massa[4]. Todavia, a utilização destes,

demanda alto custo, devido a instrumentação e reagentes de elevado grau de pureza e a necessidade de realização de etapas complexas de preparação de amostras.

1.1 Antipsicóticos

Uma classe de fármacos que é bastante empregada são os antipsicóticos. Esses são alternativas para depressão grave e distúrbios psicóticos. Os distúrbios psicóticos são a esquizofrenia, as psicoses idiopáticas agudas e outras condições marcadas por agitação grave. Todos estes distúrbios causam perturbações profundas no raciocínio, geralmente com ilusões e alucinações[7]. A esquizofrenia é uma patologia do sistema nervoso central (SNC). O termo esquizofrenia foi empregado pelo médico suíço Eugem Bleuler que a definiu como um distúrbio associativo. Este termo veio substituir a denominação demência precoce; o tipo mais comum de psicose, caracterizado por um distúrbio nos processos de raciocínio, tais como ilusões e alucinações e extenso retraimento do interesse do individuo em relação a outras pessoas e ao mundo exterior, assim como à introversão em si mesmo[8].

De forma geral, nos seres humanos, os antipicóticos exibem como efeito a capacidade de deprimir a iniciativa e o interesse pelo ambiente, assim como suprimem as manifestações emocionais. O mecanismo de ação dos antipsicóticos envolve, de acordo com as teorias mais aceitas, o impedimento da captação da dopamina, ou seja, possuem a capacidade de antagonizar as ações deste neurotransmissor[7]. A Figura 1 mostra de forma ilustrativa o mecanismo de ação dos antipsicóticos.

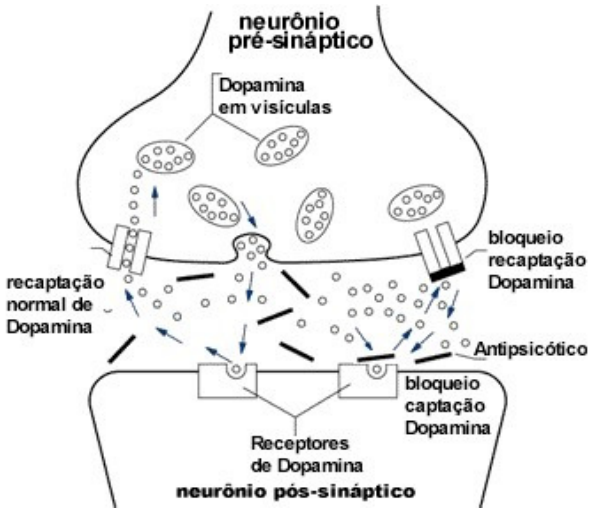

Figura 1: *Representação ilustrativa do mecanismo de ação dos antipsicóticos [adaptado da ref. 9].*

Em meados da década de 50, foram introduzidos para o tratamento da esquizofrenia os fármacos fenotiazínicos, antipsicóticos clássicos, que representaram um marco na farmacoterapia psiquiátrica, melhorando consideravelmente o prognóstico desta e de outras patologias do sistema nervoso central (SNC). O principal representante deste grupo é a clorpromazina. Posteriormente, outras classes de antipsicóticos clássicos foram surgindo, como as butirofenonas[8].

1.2 Butirofenonas

As butirofenonas compõem outra classe de antipsicóticos clássicos usualmente empregados na terapêutica, que tiveram seu perfil farmacológico caracterizado por acaso. A descoberta das butirofenonas decorreu da tentativa de otimizar a atividade analgésica da meperidina (**A**), quando foram sintetizados análogos *nor*-meperidínicos. Desta forma foram obtidos os análogos propiofenônicos (**B**), que apresentam potência analgésica cerca de 200 vezes superior à de **A**. Enquanto que os compostos butirofenônicos, *e.g.* haloperidol (**C**) demonstraram um perfil semelhante ao observado para a clorpromazina[8]. A Figura 2 apresenta a evolução dos compostos butirofênonicos.

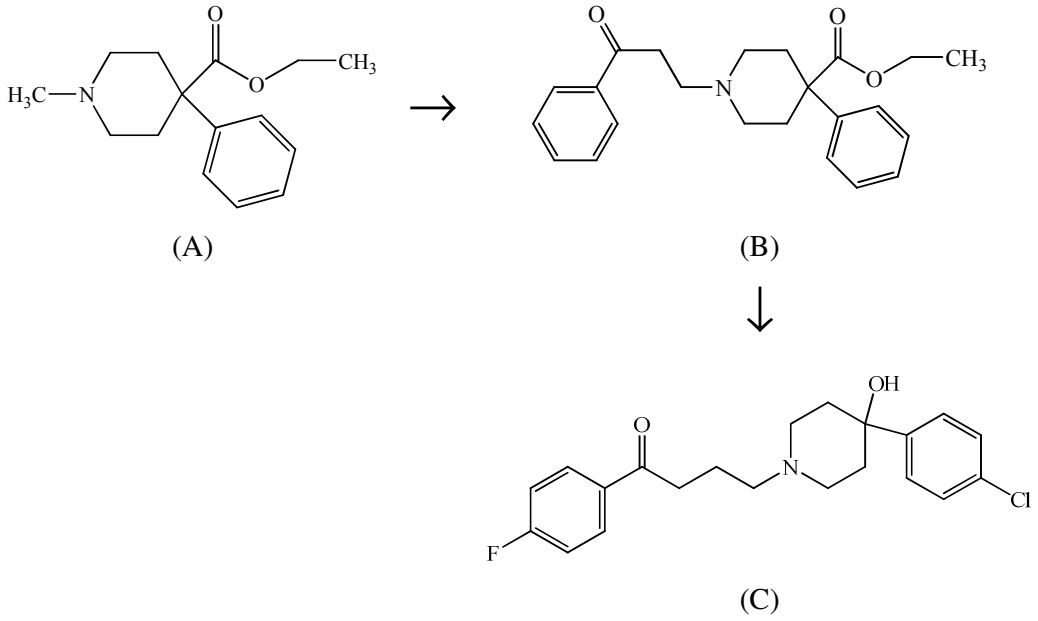

Figura 2: *Evolução dos compostos butirofenônicos.*

Por meio de estudos sobre a relação entre a estrutura química e a atividade farmacológica desta família de compostos, foi possível estabelecer um esqueleto mínimo necessário para a atividade pretendida. Estes requisitos estruturais mínimos compreendem o átomo de nitrogênio terciário, ligado a uma cadeia alquílica de quatro átomos de carbono pertencente ao esqueleto butirofenônico, substituído na posição *para* do anel aromático por um átomo de flúor. O átomo de nitrogênio terciário, geralmente, está inserido em um anel alifático de seis membros, na maioria das vezes substituídos na posição 4[8].

1.3 Haloperidol

Haloperidol (HP) (nomenclatura IUPAC 4-(4-(4-clorofenil)-4-hidroxipiperidin-1-il)-1-(4-fluorofenil)butan-1-ona) pertence ao grupo das butirofenonas, com propriedades neuroléptica e antipsicótica largamente empregado no tratamento de esquizofrenia e estados psicóticos similares[10- 14]. A estrutura química do haloperidol (HP) pode ser vista na Figura 3.

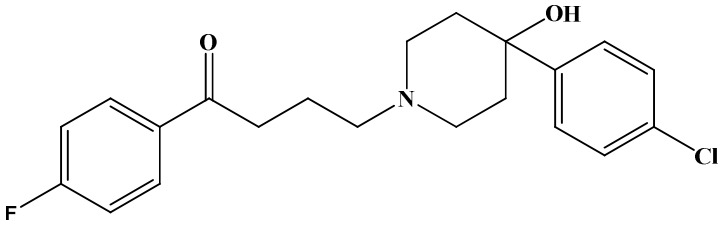

Figura 3: *Estrutura química do haloperidol.*

De uma forma geral, os antipsicóticos são muito ativos e por isto são administrados em baixas dosagens diárias. O HP apresenta uma faixa terapêutica de 0,005 – 0,02 µg mL^{-1}[15]. Todavia, HP pode causar efeitos adversos no ser humano, tais como hipotensão e anormalidades na função motora[16,17]. Devido a estes fatores de grande relevância em termos de Saúde Pública, o desenvolvimento de uma metodologia analítica de alta sensibilidade é exigida, a fim de realizar sua quantificação em formulações comerciais.

Além da indicação para tratamento dos sintomas psicóticos, pode ser usado também para evitar enjôos e vômitos de qualquer origem, para controlar agitação e agressividade devido a outras perturbações mentais. HP é completamente absorvido no trato gastrointestinal, sendo metabolizado no fígado, excretado na urina e no leite materno[16]. Os metabólitos do HP são inativos, com a possível exceção de um produto hidroxilado formado pela redução do

grupo ceto, que pode ser novamente oxidado em HP[7]. Este medicamento possui características farmacológicas similares aos da classe dos fenotiazínicos[8].

Na prática, vários procedimentos analíticos vêm sendo reportados na literatura para determinação de HP. Técnicas como espectrofotometria[18], eletroforese capilar[19], cromatografia líquida de alta eficiência[12,20 - 25], cromatografia gasosa[26] e espectrometria de massa[27]. A sensibilidade alcançada por todos estes procedimentos é muito satisfatória para a quantificação analítica de compostos farmacêuticos. Todavia, em alguns casos, uma etapa prévia é exigida antes da quantificação, envolvendo extração da mistura com outros compostos ou a partir de amostras complexas, tornando análises de rotina economicamente inviáveis. Neste contexto, as técnicas eletroanalíticas que possuem como principais características a possibilidade de estabelecimento de relações diretas entre concentração do analito e alguma propriedade elétrica como: corrente, potencial, condutividade ou carga. Essas técnicas têm se revelado como excelentes alternativas para a determinação deste e de outros compostos farmacêuticos, uma vez que são simples, de baixo custo, apresentam tempo relativamente curto nas análises, sem a necessidade de etapas preliminares de extração. Além disto, estas técnicas são menos sensíveis que outras técnicas analíticas para os efeitos das substâncias excipientes presentes em formulações comerciais[28].

Entre as técnicas eletroanalíticas atualmente usadas destaca-se a Voltametria de Onda Quadrada (SWV), que nada mais é do que uma técnica voltamétrica de pulso onde a variação de potencial é realizada na forma de escada, com os pulsos de potencial de igual amplitude sendo sobrepostos a uma escada de potencial com altura constante. As correntes elétricas são medidas ao final dos pulsos direto e reverso e o sinal é obtido como uma intensidade de corrente resultante de forma diferencial ($\Delta I = I_{direta} - I_{reversa}$), apresentando alta rejeição às correntes capacitivas, originado um pico simétrico com posição, largura e altura característicos do sistema avaliado. Atualmente, os limites de detecção obtidos por esta técnica de pulso podem ser comparados aos das técnicas cromatográficas, possibilitando a análise das mais variadas classes de compostos[29]. A SWV foi desenvolvida em 1952 por Baker e no decorrer dos anos apresentou algumas modificações instrumentais aliadas ao desenvolvimento de novas teorias que foram responsáveis pelo estabelecimento da técnica para a análise de traços e na obtenção de dados relacionados à cinética e ao mecanismo de reações químicas sob as mais variadas condições experimentais. Dentre as vantagens desta técnica, pode-se citar a sua rapidez de aplicação frente a outras técnicas de pulso, como a Voltametria de Pulso Diferencial, excelente sensibilidade e diminuição das correntes residuais e menor consumo da espécie eletroativa.

1.4 Determinação analítica de haloperidol

A literatura reporta diversas metodologias analíticas para determinação de HP. As matrizes estudadas são diversas, tais como, formulações comerciais, sangue, urina e soro humano.

Ouanês e colaboradores [18] realizaram a determinação de HP na presença de parabenos empregando espectrofotometria derivativa. Os parabenos são adicionados em formulações comerciais de HP, na forma oral e injetável, agindo como conservantes. As formulações comerciais de HP estudadas foram: solução oral (2,0 e 2,0 mg mL^{-1}) e injeção (5,0 mg mL^{-1}), ambos Haldol®. O comprimento de onda selecionado foi de 255,2 nm para determinação de HP na presença destes parabenos. A linearidade foi obtida na faixa de 4 a 20 µg mL^{-1} de HP na presença de 3 µg mL^{-1} de metilparabeno e 0,3 µg mL^{-1} de propilparabeno. Os valores de *intra-day (análises realizadas no mesmo dia)* e *inter-day (análises realizadas em dias diferentes)* apresentaram desvio padrão relativo (RSD) de 0,83 % e 1,86 %, respectivamente. A exatidão apresentou valores na faixa de 99,2 a 101,1 %, indicando exatidão satisfatória. Os valores de recuperação obtidos para as formulações comerciais com os seus respectivos erros foram: 101,3 ± 1,65, 100,4 ± 1,82 e 100,3 ± 1,54. Apesar dos resultados satisfatórios obtidos nesta metodologia os autores não apresentaram os limites de detecção e de quantificação.

Wu e colaboradores[19] empregaram eletroforese capilar para analisar HP e seus metabólitos quirais. O eletrólito usado foi uma mistura de TRIS (tri-(hidroximetil) aminometano), tampão fosfato com dimetil-β-ciclodextrina e polietilenoglicol. A faixa linear obtida para HP foi de 40 a 400 nmol L^{-1} e o limite de detecção foi de 15 ng mL^{-1}. Os valores de RSD obtidos para *intra-day* ficaram no intervalo de 9,28 a 11,24 %, já para *inter-day*, o intervalo foi de 10,82 a 12,81 %. A recuperação obtida para HP apresentou valores 70,02 a 115,56 %.

Arinobu e colaboradores[20] empregaram cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massa (CLAE-EM) na determinação de HP e de seus metabólitos em plasma e urina humana. Neste trabalho, os metabólitos estudados foram HP reduzido e 4-[4-(4-clorofenil)-4-hidroxi-1-piperidinil]-(4-clorofenil)-1-butanona (CPHP). A coluna usada foi a MSpak GF-310 e a fase móvel consistia de água destilada, contendo 0,09% de ácido fórmico e 0,020 mol L^{-1} de acetato de amônio (solvente A) e acetonitrila (solvente B). As regiões de linearidades obtidas para HP, HP reduzido e CPHP, em sangue e urina bem como os limites de detecção foram: 10 a 800 ng mL^{-1} (LD de 5 ng mL^{-1}), 15 a 800 ng mL^{-1} (LD de 10 ng mL^{-1}) e 400 a 800 ng mL^{-1} (LD de 300 ng mL^{-1}), respectivamente. Os percentuais de recuperação com seus valores de RSD para HP, HP reduzido e CPHP no

plasma foram: 64,4 a 76,1% (RSD na faixa de 5,9 a 14,8%), 46,8 a 50,2% (RSD na faixa de 5,3 a 17,4%) e 97,4% (RSD de 16,3%), respectivamente. Enquanto que em urina, os percentuais de recuperação com seus valores de RSD para HP, HP reduzido e CPHP foram: 87,3 a 99,4% (RSD na faixa de 4,2 a 11,7%), 94,2 a 98,5% (RSD na faixa de 4,2 a 12,0%) e 92,7% (RSD de 15,8%), respectivamente. Para o HP o *intra-day* o RSD foi de 12,8% e o *inter-day* foi de 26,8%, isso no plasma. Na urina os valores foram: *intra-day* de 5,8% e o *inter-day* foi de 19,8%.

Trabelsi e colaboradores[21] desenvolveram uma metodologia para a determinação de HP e realizaram também o estudo de degradação do HP empregando CLAE utilizando fase estacionária de octadecilsilano (C18) e fase móvel consistindo da seguinte mistura: solução de fosfato de sódio monobásico 0,05 mol L^{-1} com pH 2,5, acetonitrila, tetrahidrofurano e trietilamina na proporção de 63:34:3:0,1(v/v/v/v), ajustado com ácido ortofosfórico para pH 2,5. A faixa de linearidade foi observada de 10 a 50 µg mL^{-1}. Os limites de detecção e quantificação encontrados foram de 15 ng mL^{-1} e 50 ng mL^{-1}, respectivamente. Os valores de RSD para *intra-day* e *inter-day* foram menores que 2%. O estudo de recuperação com o padrão de HP apresentou recuperações entre 98,9 a 101,7% com RSD entre 0,4 e 2,1%. O método proposto foi aplicado para determinação de HP em comprimidos Haldol® e os resultados obtidos foram: recuperação entre 98 e 100% com RSD entre 0,9 e 2,6%.

Titier e colaboradores [12] realizaram um estudo de identificação e quantificação de HP e de outros antipsicóticos (risperidona, olanzapina, closapina, hidroxirisperidona) em plasma empregando CLAE. A coluna empregada foi a de octilsilano (C8) e a fase móvel usada foi uma solução de tampão fosfato 0,05 mol L^{-1} pH 3,8 e acetonitrila com gradiente (aumento linear de 15 para 35% de acetonitrila em 5 min., e para 63% em mais 6 mim.). A curva de calibração apresentou linearidade na faixa compreendida entre 10 e 1000 ng mL^{-1} e o limite de quantificação obtido foi de 5 ng mL^{-1}. A metodologia apresentou valores de RSD para *intra-day* e *inter-day* para HP na faixa de 3,2 a 7,4% e 4,5 a 17,5%, respectivamente. O fator de recuperação de HP no plasma, conforme o procedimento proposto, apresentou valor de 72,4 ± 3,2 (média ± desvio padrão).

Yasui-Furukori e colaboradores[22] empregaram CLAE com coluna C18 e detector ultravioleta (UV) para determinação simultânea de HP e bromperidol e seus metabólitos reduzidos. Neste trabalho a fase móvel empregada consistia na mistura de tampão fosfato (0,02 mol L^{-1} pH 4,6), ácido perclórico 60% e acetonitrila, na proporção 54:1:45 como fase movel. Os autores apresentaram para HP e demais compostos região de linearidade na faixa de 1 a 100 ng mL^{-1} e limites de detecção e de quantificação obtidos foram de 0,5 e 1,0 ng mL^{-1}, respectivamente. A precisão da metodologia para HP em termos de *intra-day* apresentou

RSD de 2,5% e o *inter-day* foi de 3,9%. Estudos de recuperação de HP na amostra de plasma forneceram como resultado um intervalo de percentual de recuperação de 97,7 a 99,9% com RSD no intervalo de 0,6 a 1,7%.

Singh e colaboradores[23] realizaram a determinação de HP em plasma humano empregando CLAE-EM com ionização por eletronebulização. A separação cromatográfica foi realizada empregando coluna de fase reversa C18 e a fase móvel consistia em mistura na proporção de 70:30 (v/v) de solução de acetato de amônio 0,001 mol L^{-1} pH 3,0 e acetonitrila, empregando o modo isocrático. A faixa linear obtida foi entre 0,07 a 14 ng mL^{-1}. O limite de quantificação foi de 0,07 ng L^{-1}. O *intra-day* obtido apresentou RSD na faixa de 3,85 a 12,35%, enquanto que o *inter-day* foi de 5,76 a 8,28%. A recuperação de HP em plasma ficou na faixa de 91,74 a 99,54%, com RSD na faixa de 4,97 a 11,35%.

Outro trabalho envolvendo a determinação de HP em formulações comerciais na forma de comprimidos empregando CLAE foi o de Mennickent e colaboradores[24], que utilizaram fase estacionária com camada fina de sílica gel e como fase móvel uma mistura de acetona, clorofórmio, butanol, ácido acético glacial e água na proporção 5:10:10:2,5:2,5 (v/v/v/v/v). A metodologia apresentou linearidade na faixa de 10 a 100 ng μL^{-1} e os limites de detecção e de quantificação obtidos foram de 0,89 ng μL^{-1} e 2,71 ng μL^{-1}, respectivamente. A precisão, em termos de RSD, ficou na faixa de 0,64 a 2,33% para *intra-day* e entre 1,80 a 2,35% para *inter-day*. A faixa de recuperação de HP no comprimido foi de 97,76 a 100,33% com valores de RSD na faixa de 0,53 a 4,50%. Segundo os autores, os excipientes presentes no comprimido não interferiram na análise. Todavia, os autores não explicitam quais são as substâncias que agem como excipientes presentes nas formulações comerciais avaliadas.

Kumazawa e colaboradores[25] empregaram um sistema automatizado de microextração em fase sólida aliada à cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massa sequencial (CLAE-EM/EM) para determinação de butirofenonas em plasma humano. Os compostos da classe dos butirofenonas estudados foram: moperone, floropipamide, haloperidol, spiroperidol, bromperidol e pimozida. A coluna C8 foi usada para separação cromatográfica e os solventes empregados foram: solução 0,01mol/L^{-1} de acetato de amônia (solvente A) e acetonitrila (solvente B), foi empregado o modo de diluição por gradiente. A linearidade para HP foi obtida na faixa de 0,05-50 ng/0,1mL, com os limites de detecção e de quantificação calculados nesta metodologia sendo 0,02 e 0,05 ng/0,1mL, respectivamente. O RSD para *intra-day* ficou na faixa de 5,24 a 10,3% e *inter-day* variou de 8,81 a 13,4%.

Pujadas e colaboradores[26] empregaram cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM) para determinação de drogas psicoativas em fluido oral

(saliva). As drogas estudadas neste trabalho foram: psicoestimulantes, cocaína e seus metabólitos, carnabinóides, narcóticos, antidepressivos e antipsicóticos (haloperidol, cloropromazina e fluorfenazina). A coluna usada foi um capilar com metilsilicone e o gás de arraste empregado foi o hélio. Os limites de detecção e de quantificação para HP foram 2,5 e 7,2 ng/mL, respectivamente. A recuperação variou entre 87,2 e 96,1% com RSD na faixa de 2,9 a 5,9 %; *intra-day* máximo apresentou RSD de 18,3%, enquanto que o valor máximo para *inter-day* foi de 20,5 %.

Shamsipur e colaboradores[27] empregaram a técnica de ressonância magnética nuclear de flúor (RMN ^{19}F) para determinação de HP em três formulações comerciais: comprimidos Apotex® e Sobhan®, na forma injetável com procedência da *Iran Pharmaceutical Development and Investment Company*® (I.P.D.I.C.) e em soro sanguíneo. A metodologia foi baseada na integração do sinal do HP e do ácido trifluoracético, que foi usado como padrão interno. A faixa de linearidade neste trabalho foi obtida de 60 a 600 µg mL^{-1} e o limite de detecção calculado foi de 1,4 µg mL^{-1}. Em amostras de soro, os percentuais de recuperação ficaram na faixa de 96,7 a 102,5% e RSD na faixa de 3,2 a 6,9%. Os percentuais de recuperação no comprimido contendo HP foram de 99 a 105% com desvio padrão na faixa de 3 a 5%; já para a apresentação injetável a faixa de recuperação foi de 97 a 103% com desvio padrão na faixa de 3 a 6%.

1.5 Determinação eletroanalítica de haloperidol

Vire e colaboradores[30] estudaram o comportamento eletroquímico de HP e outros compostos da família das butirofenonas, tais como: bemperidol, droperidol, espiperona e azaperona empregando polarografia. Para HP foi observado à presença de uma onda catódica em torno de -1,1 V *vs.* ECS (eletrodo de calomelano saturado) em pH 3,0 e também o surgimento de uma pré-onda de adsorção em torno de 150 mV antes da onda principal. Medidas de coulometria em potencial controlado revelaram que há participação de dois elétrons na reação de redução do grupo carbonila da molécula de HP. A relação linear entre potencial de meia-onda e pH apresentou uma inclinação de 51 mV/pH, um indicativo da participação de dois prótons por molécula de HP reduzida. Estudos de voltametria cíclica mostraram uma total irreversibilidade do processo de redução, e em ciclos sucessivos ocorreu uma perda gradual no sinal devido a efeitos de adsorção do produto da reação. Ao empregar polarografia de pulso diferencial foi obtida uma relação linear entre 1,0 x 10^{-5} e 1,0 x 10^{-6} mol L^{-1} para HP em pH 3,0 e o limite de detecção calculado foi de 0,4 mg L^{-1}. Observou-se que as outras moléculas, bemperidol, droperidol, espiperona e azaperona apresentaram

comportamento semelhante ao obtido para HP. Os autores comentam que ao tentar analisar o comportamento eletroquímico simultâneo das butirofenonas estudadas encontraram problemas quanto a resolução dos processos, ou seja, não foi possível diferenciar o processo redox de cada molécula, devido aos valores de potenciais de redução próximos das mesmas.

Bishop e colaboradores[31] na tentativa de avaliar o comportamento anódico de HP e outros compostos pertencentes ao grupo das butirofenonas: aceperona, benperidol, droperidol, haloperidol e spiperona utilizando eletrodo de disco rotatório de Pt e Au em meio de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} verificaram que o HP foi anodicamente inativo sobre estas superfícies metálicas.

Tuzhi e colaboradores[32] realizaram estudos voltamétricos de HP após acumulação adsortiva. O eletrodo de carbono vítreo foi utilizado como eletrodo de trabalho. A etapa de acumulação adsortiva consistia em deixar o eletrodo de carbono vítreo imerso em solução contendo a amostra por um tempo determinado em potencial de circuito aberto, sob agitação de 400 rpm. Em seguida, o eletrodo era transferido para a célula contendo eletrólito de suporte onde era realizado o experimento voltamétrico, empregando voltametria cíclica ou voltametria de pulso diferencial. Diversos eletrólitos foram estudados: tampões fosfato, borato, acetato de amônio e BR. A maior sensibilidade foi obtida em tampão BR, onde se obteve relação linear entre potencial de pico e pH com inclinação de 53 mV/pH. Em meio de tampão BR pH 9,0, onde foi obtida maior sensibilidade, o voltamograma cíclico apresentou um processo de oxidação irreversível em torno de +0,4 V *vs.* Ag/AgCl/Cl^-. Neste mesmo trabalho, testes empregando os eletrodos de Pt e Au como eletrodos de trabalho foram realizados e os autores afirmam que nenhum processo redox da molécula de HP foi observado. A técnica de voltametria de pulso diferencial foi empregada nos estudos analíticos, onde foram obtidas duas relações lineares: 5,3 x 10^{-9} a 2,6 x 10^{-8} mol L^{-1} (com cinco minutos de acumulação em potencial de circuito aberto) e de 5,3 x 10^{-8} a 2,6 x 10^{-7} mol L^{-1} (com dois minutos de acumulação). O limite de detecção foi calculado como sendo 1,3 x 10^{-9} mol L^{-1}. Ainda foi mostrado neste trabalho que íons metálicos como Cu(II), Pb(II), Ni(II), Zn(II), Cd(II) e Fe(III), todos na concentração de 100 ppm não interferiram na resposta voltamétrica de HP. Ácidos ascórbico e úrico, ambos nas mesmas concentrações dos íons, também não interferiram, porém glicose (100 ppm), colesterol (40 ppm) e gelatina (5 ppm) proporcionaram uma perda na intensidade da corrente de pico de 11, 12 e 14 %, respectivamente, devido à adsorção destas espécies na superfície do eletrodo.

El-Desoky e colaboradores[33] empregaram voltametria de onda quadrada adsortiva para determinação de HP em formulações comercias de comprimidos Sufinace® e em fluidos biológicos utilizando eletrodo de gota pendente de mercúrio. O estudo foi realizado em meio misto, tampão BR na faixa de pH variando de 2,5 a 11 mais etanol na proporção 60:40 (v/v).

Em pH 10, o processo de redução foi observado em torno de -1,55 V vs. Ag/AgCl/Cl^- em meio de KCl 3 mol L^{-1}. Os autores comentam a existência de um pré-pico de adsorção de baixa intensidade em torno de -1,1 V. A relação linear entre potencial de pico e pH apresentou inclinação de 51 mV/pH. Neste trabalho, o sinal analítico mais sensível foi obtido com os seguintes parâmetros: pH 9,0, E_a = -1,3 V, t_a = 180 s; f = 40 s^{-1}, a = 25 mV e ΔE_s = 6 mV. A faixa de linearidade obtida em eletrólito foi de 1,0 x 10^{-9} a 5,0 x 10^{-7} mol L^{-1}, os limites de detecção e de quantificação foram de 3,82 x 10^{-10} mol L^{-1} e 1,28 x 10^{-9} mol L^{-1}, respectivamente. O percentual de recuperação ficou na faixa de 98,9 a 100,3% com RSD na faixa de 1,15 a 2,43%. A linearidade em urina foi obtida entre 1,0 x 10^{-8} a 8,0 x 10^{-7} mol L^{-1} e limite de detecção de 5,46 x 10^{-9} mol L^{-1} e limite de quantificação de 1,82 x 10^{-8} mol L^{-1}. O valor de percentual de recuperação neste meio foi de 98,4% com RSD de 1,6%. Em soro, o intervalo de linearidade foi de 1,0 x 10^{-8} a 5,0 x 10^{-7} mol L^{-1}, com limite de detecção de 3,30 x 10^{-9} mol L^{-1} e limite de quantificação igual a 1,10 x 10^{-8} mol L^{-1}. O percentual de recuperação médio foi de 99,3% com RSD de 1,4 %. A metodologia foi aplicada em comprimidos Safinace®, onde o valor médio o percentual de recuperação foi 101,7% com RSD de 2,4%.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho foi desenvolver uma metodologia eletroanalítica para determinação de Haloperidol em formulações comerciais, visando à possibilidade de uma futura aplicação desta metodologia para análise desta substância em águas naturais, tendo em vista que uma certa dosagem de um fármaco pode ser excretada na forma inalterada. Outro objetivo deste trabalho é fazer o estudo do comportamento eletroquímico da molécula de HP sobre o eletrodo de gota pendente de mercúrio.

2.2. Objetivos específicos

De acordo com o objetivo geral, seguem abaixo os objetivos específicos:

1. Otimização dos parâmetros experimentais e voltamétricos para o desenvolvimento do procedimento eletroanalítico para a determinação de Haloperidol;

2. Obtenção de informações sobre o mecanismo eletroquímico envolvido na molécula de HP empregando voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada;

3. Construção de curvas analíticas e cálculos os limites de detecção, de quantificação e de eficiência dos procedimentos;

4. Aplicação da metodologia desenvolvida obtida em amostras de formulações comerciais, que representam matrizes complexas;

5. Comparação entre os resultados obtidos pela metodologia eletroanalítica desenvolvida e o método espectrofotométrico na região do ultravioleta e do visível (UV-Vis), procedimento recomendado pela Farmacopéia Britânica.

3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes e soluções

3.1.1 Reagentes

Todos os reagentes utilizados apresentam pureza analítica (PA). Na Tabela 1, são apresentados a procedência de todos os reagentes utilizados.

Tabela 1: Procedência dos reagentes analíticos utilizados.

Reagentes	Fórmula Química	Procedência
Ácido acético glacial	CH_3COOH	Vetec
Ácido bórico	H_3BO_3	Vetec
Ácido fosfórico	H_3PO_4	Vetec
Álcool etílico	CH_3CH_2OH	Dinâmica
Cloreto de potássio	KCl	Vetec
Hidróxido de sódio	NaOH	Synth
Haloperidol	$C_{21}H_{23}ClFNO_2$	USP*

* *United States Pharmacopeia*

3.1.2 Soluções

3.1.2.1 Solução tampão

O eletrólito de suporte empregado foi o tampão Britton-Robinson (BR) 0,04 mol L^{-1}, preparadas a partir de ácido acético 0,04 mol L^{-1}, ácido bórico 0,04 mol L^{-1} e ácido fosfórico 0,04 mol L^{-1}. Para o ajuste do pH desejado foi utilizado uma solução de NaOH 0,2 mol L^{-1}[34].

3.1.2.2 Solução estoque de Haloperidol

A solução estoque de Haloperidol foi preparada pesando-se uma quantidade adequada (m = 0,01879 g) do composto e solubilizado-a em 100% de etanol, para uma solução $1,0x10^{-3}$ mol L^{-1}. A solução foi mantida ao abrigo de luz e sob refrigeração em torno de 4 °C. A partir da diluição desta solução foi preparada uma solução $1,0x10^{-4}$ mol L^{-1} do composto.

3.1.2.3 Solução estoque da formulação comprimido Haldol®

Haldol® (Janssen-Cilag, Brasil) na apresentação comprimido apresenta 1 mg de Haloperidol e tem como excipientes lactose, amido, sacarose, talco e estearato de magnésio.

A solução de Haldol® foi preparada pesando-se dez comprimidos com massa média de 0,1011 ± 2,334x10^{-3} g e triturando-se em um almofariz até a obtenção de um pó fino homogêneo. Esta massa foi transferida para um balão calibrado de 25 mL e diluído ao volume com 100% de etanol. O conteúdo do balão foi mantido em banho de ultra-som por dez minutos para efetuar sua completa dissolução. Da solução resultante com concentração 1,064 x10^{-3} mol L^{-1} foi retirada uma alíquota apropriada e colocada em um balão volumétrico de 10 mL tendo seu volume completado com etanol para concentração final de 1,0x10^{-4} mol L^{-1}.

3.1.2.4 Solução estoque da formulação solução oral de Haldol®

Haldol® (Janssen-Cilag, Brasil) na apresentação solução oral apresenta 2 mg de Haloperidol por cada mililitro, tendo como excipientes ácido láctico, metilparabeno e água purificada.

A solução foi preparada tomando-se 470 μL da formulação comercial, colocando-os em um balão volumétrico e diluindo-os em 100% de etanol para a obtenção de uma solução de concentração final de 1,0x10^{-4} mol L^{-1}. Todas as amostras foram usadas imediatamente após a sua preparação para evitar decomposição pela luz ou calor.

3.2 Instrumentação

Os experimentos eletroquímicos foram realizados usando potenciostato Autolab modelo PGSTAT 30 (Eco Chemie) controlado por um computador, usando o software GPES (General Purpose Electrochemical System) versão 4.9. Espectrofotômetro modelo Cary 1E (Varian) com células de quartzo com 1 cm de caminho óptico foi utilizado para as medidas de UV-Vis. A água empregada para preparação das soluções e lavagem das vidrarias foi purificada por um sistema Milli-Q (Millipore, Inc.), apresentando resistividade 18,2 MΩ cm. Todas as pesagens foram feitas utilizando-se uma balança analítica Kern, modelo 410 com precisão de ± 0,1 mg. As medidas de pH foram realizadas em um pHmetro modelo B474 (Micronal®) e um eletrodo de vidro combinado da Micronal®.

3.2.1 Eletrodos

3.2.1.1 Eletrodo de trabalho

Foi utilizado como eletrodo de trabalho um eletrodo de gota pendente de mercúrio (HMDE), do inglês "*Hanging Mercury Drop Electrode*"[35], de área 0,52 mm^2, modelo VA Stand 663 (Metrohm).

3.2.1.2 Eletrodo de referência

Em todos os experimentos voltamétricos foi utilizado um eletrodo de $Ag/AgCl/Cl^-$ em meio de KCl saturado como sistema de referência. O eletrodo foi obtido recobrindo um fio de prata com $AgCl_{(s)}$ por anodização. Após a eletrolise, o fio de prata recoberto com AgCl(s) foi colocado em tubo de vidro contendo uma solução de KCl saturada.

3.2.1.3 Eletrodo auxiliar

Carbono vítreo na forma de cilindro com 65 mm de comprimento e diâmetro de 2 mm da Metrohm foi utilizado como eletrodo auxiliar.

3.2.2 Sistema eletroquímico

Os experimentos voltamétricos foram realizados utilizando-se uma célula eletroquímica convencional em vidro Pyrex® com capacidade de 50 mL, possuindo orifícios para a retirada de oxigênio da solução, posicionamento dos eletrodos, agitador e para adicionar as alíquotas da solução contendo HP.

3.3 Metodologia

3.3.1 Voltametria cíclica

A técnica de voltametria cíclica foi empregada inicialmente para avaliar o comportamento eletroquímico e para escolha do pH do meio tamponante que forneceria uma melhor sensibilidade analítica para HP sobre HMDE. A técnica de voltametria cíclica também foi empregada para obter informações sobre o mecanismo de redução do composto em estudo,

avaliando os critérios diagnósticos fornecidos por esta técnica. Para a realização dos experimentos foram adicionados 20 mL do eletrólito de suporte (tampão BR 0,04 mol L^{-1}) à célula eletroquímica e, em seguida, o oxigênio da solução foi removido pelo borbulhamento de nitrogênio por um período de 10 minutos.

3.3.2 Voltametria de onda quadrada

A técnica de voltametria de onda quadrada (SWV) foi empregada com o intuito de desenvolver uma metodologia eletroanalítica para determinação de HP em formulações comerciais sobre HMDE, pois atualmente, existe uma preocupação no desenvolvimento de metodologias analíticas suficientemente sensíveis na determinação de fármacos. A utilização desta técnica consistiu em realizar a otimização dos parâmetros voltamétricos, tais como frequência, amplitude e incremento de potencial. A otimização foi realizada avaliando-se a intensidade da corrente de pico e o perfil voltamétrico, obtidos em função da variação de cada parâmetro separadamente. Após a obtenção das condições otimizadas, as curvas analíticas em eletrólito foram construídas pela adição de alíquotas da solução padrão na célula eletroquímica. Uma vez adicionada a alíquota, um voltamograma de onda quadrada era obtido. Os experimentos de recuperação em eletrólito e em amostras de fármacos foram realizados empregando o método da adição de padrão.

3.3.3 Espectrofotometria de absorção na região do UV-Vis

Os resultados obtidos pelo procedimento eletroanalítico foram comparados com aqueles obtidos por espectrofotometria de absorção na região do UV-Vis, que, por sua vez, é a técnica recomendada pela Farmacopéia Britânica para determinação de HP[18,36]. O comprimento de onda recomendado para a sua determinação é de 245 nm, por apresentar maior sensibilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Comportamento eletroquímico

A técnica de voltametria cíclica é inicialmente empregada para avaliar a eletroatividade de uma substância, ou seja, determinar se alguma espécie, em solução, pode ser oxidada ou reduzida na superfície de um eletrodo. Para avaliar o comportamento eletroquímico da molécula de HP sobre HMDE foram realizados experimentos de voltametria cíclica na faixa de -0,90 V a -1,65 V com velocidade de 20 mV s^{-1} por cinco ciclos consecutivos. A Figura 4 mostra os voltamogramas cíclicos para HP, com indicação do primeiro e quinto ciclo.

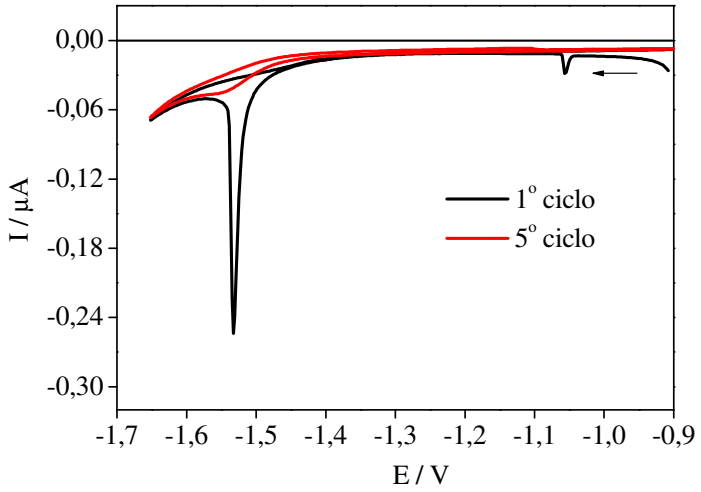

Figura 4: *Voltamogramas cíclicos de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com velocidade de varredura de 20 mV s^{-1}.*

A partir dos resultados obtidos foi possível observar que o primeiro ciclo apresentou um processo de pequena intensidade em torno de -1,05 V. Vire e colaboradores[30], estudando o comportamento eletroquímico de HP e outros compostos da família das butirofenonas, bemperidol, droperidol, espiperona e azaperona, relatam o surgimento de um pré-pico que antecede o processo de redução das moléculas estudadas, sendo atribuído à adsorção das moléculas na superfície do eletrodo.

Lawton e colaboradores[37] relatam que uma forte adsorção de reagentes ou produtos pode fornecer um pré-pico ou pós-pico de adsorção. Comentam ainda que este fenômeno é causado por uma diferença de energia livre entre as moléculas fortemente adsorvidas e as

moléculas que não experimentam esta adsorção. Então este processo de baixa intensidade pode ser chamado de pré-pico de adsorção.

Em adição foi observado um processo de redução da molécula de HP em potenciais mais negativos, em torno de -1,5 V e na varredura reversa não foi observado nenhum processo, indicando assim a irreversibilidade natural da reação no eletrodo, similar ao observado por El-Destok e colaboradores[33].

No quinto ciclo foi observada a diminuição na intensidade de corrente de pico referente ao processo de redução de HP e houve também o desaparecimento do pré-pico. Este comportamento é devido à adsorção do produto da reação na superfície eletródica, diminuindo, assim, a área ativa do eletrodo, impossibilitando que mais moléculas de HP experimentem a reação de redução.

Com o intuito de avaliar a influência do pré-pico de adsorção na intensidade de corrente de pico do processo de redução de HP foram realizados experimentos de voltametria cíclica com diferentes intervalos de potencial. O primeiro experimento foi realizado com a varredura iniciando em -0,90 V exibindo o pré-pico e o segundo com a varredura iniciando em um potencial de -1,25 V, após o pré-pico. A Figura 5 apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos sem e com a presença do pré-pico de adsorção.

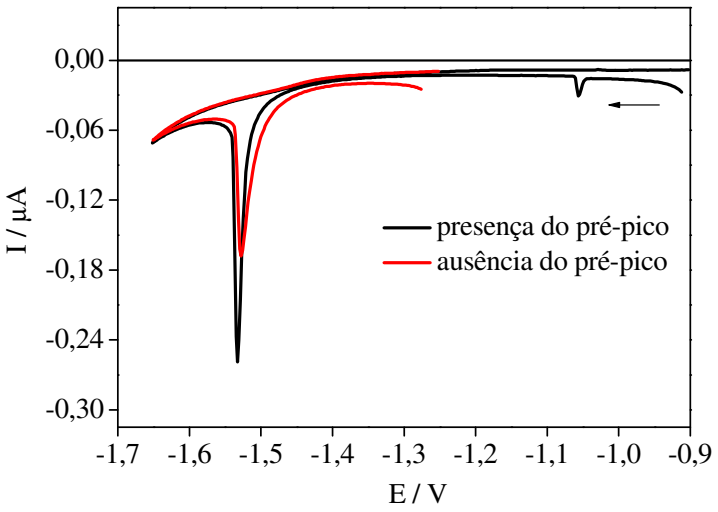

Figura 5: *Voltamogramas cíclicos de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE a uma velocidade de varredura de 20 mV s^{-1} sem e com a presença do pré-pico de adsorção.*

Foi possível observar que a ausência do pré-pico proporcionou uma diminuição na intensidade da corrente de pico do processo, refletindo na diminuição da sensibilidade. Este comportamento sugere que o pré-pico se refere a uma prévia adsorção das moléculas de HP na superfície do eletrodo, aumentando a quantidade de moléculas que irão passar à forma

reduzida após a transferência de carga. Este resultado já fornece um indício de que a etapa determinante da reação é a adsorção das espécies na superfície do eletrodo.

Para avaliar a reprodutibilidade dos resultados mostrados na Figura 5 foram realizados experimentos de voltametria cíclica para cada uma das condições apresentadas anteriormente. Na sequência, as correntes de pico para cada condição foram avaliadas. A partir dos valores obtidos foi calculado valor médio (n = 12) e desvio padrão para os dois conjuntos de dados $I_{p(ausência)}$ / A= 1,42 x 10^{-7} ± 2,46 x 10^{-9} e $I_{p(presença)}$ / A= 2,20 x 10^{-7} ± 6,22 x 10^{-10}. O valor médio da corrente de pico na ausência do pré-pico se apresentou em torno de 35,5 % menor que a média da corrente de pico obtida na presença do pré-pico, mostrando que a presença do pré-pico influencia de forma significativa no sinal eletroquímico.

Assim, todos os experimentos voltamétricos posteriores foram realizados no intervalo de potencial iniciando antes do pré-pico de adsorção. Todavia, os voltamogramas obtidos na sequência deste trabalho apresentam somente o processo de redução de HP que será empregado para o desenvolvimento da metodologia eletroanalítica.

4.1.2 Influência da velocidade de varredura

A influência da velocidade de varredura na corrente de pico e no potencial de pico de redução do HP foi estudada no intervalo de 20 a 500 mV s^{-1}. Os voltamogramas obtidos em função da velocidade de varredura podem ser observados na Figura 6.

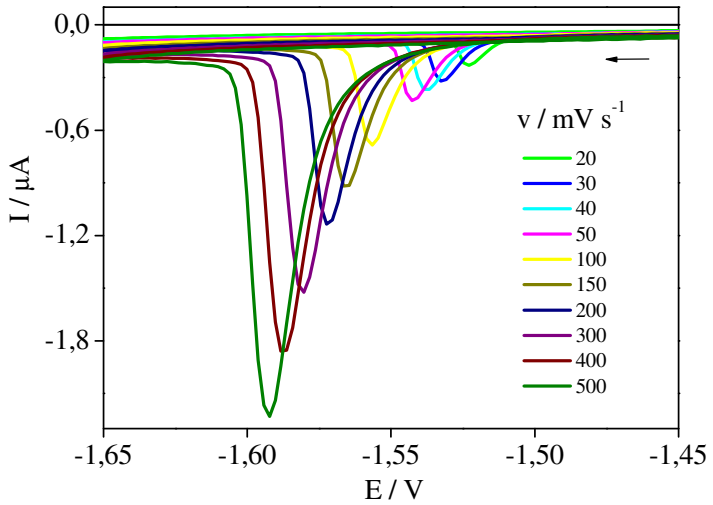

Figura 6: *Voltamogramas cíclicos de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com velocidades de varredura entre 20 e 500 mV s^{-1}.*

Os voltamogramas mostram que o potencial de pico apresentou um deslocamento para valores mais negativos com o aumento da velocidade de varredura confirmando o comportamento irreversível do processo de redução[38]. A literatura reporta que para reações totalmente irreversíveis, a relação entre o potencial de pico e a velocidade de varredura é dada pela equação 1[39].

$$E_p = \left(\frac{2{,}303RT}{\alpha nF}\right)\log\left(\frac{RTk_f}{\alpha nF}\right) - \left(\frac{2{,}303RT}{\alpha nF}\right)\log v \qquad (1)$$

onde R é a constante dos gases, T a temperatura, F a constante de Faraday, k_f constante de velocidade heterogênea, v a velocidade de varredura, α o coeficiente de transferência de carga e n o número de elétrons.

A dependência do potencial de pico em função do log *v* apresentou relação linear com um coeficiente de correlação (r) igual a 0,9994. A partir da inclinação $\partial E_p/\partial \log v = 0{,}0491$ V dec^{-1} (equação 2) obtida a partir da relação linear foi possível calcular o número de elétrons envolvidos no processo. Aplicando a inclinação obtida na equação 1 foi obtido um valor de αn = 1,20. Para sistemas com moléculas orgânicas em soluções aquosas, o coeficiente de transferência eletrônica maior que 0,5 pode ser considerado[41]. Assumindo α próximo a 0,6, tem-se n = 2, ou seja, dois elétrons participam da reação. De acordo com a literatura, a reação de redução ocorre no grupo carbonila da molécula de HP envolvendo dois elétrons[30]. A Figura 7 apresenta a relação entre potencial de pico *versus* logaritmo da velocidade de varredura.

$$-E_p = 1{,}459 + 0{,}0491 \log v \qquad (2)$$

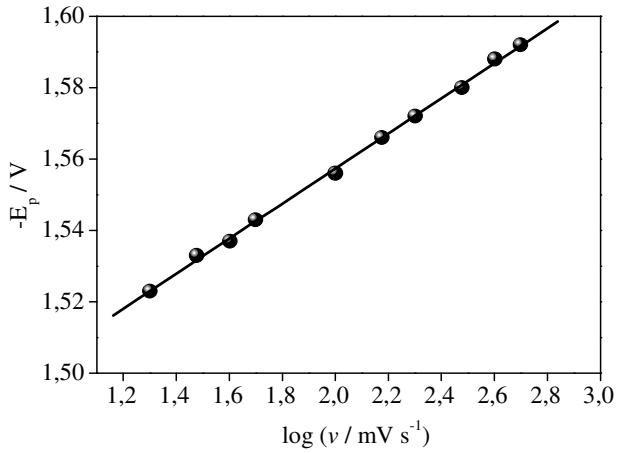

Figura 7: *Relação entre potencial de pico e logaritmo da velocidade de varredura obtida a partir de voltamogramas cíclicos de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com diferentes velocidades de varredura.*

Também foi observado que a intensidade da corrente de pico apresentou uma relação linear com a velocidade de varredura apresentando duas inclinações como pode ser visto pelas equações 3 e 4.

$$\text{Inclinação (1): } -I_p = 1{,}314 \times 10^{-7} + 6{,}28 \times 10^{-9}\, v \qquad (3)$$

$$\text{Inclinação (2): } -I_p = 3{,}745 \times 10^{-7} + 4{,}56 \times 10^{-9}\, v \qquad (4)$$

Segundo a literatura, a corrente de pico apresenta uma relação linear com a velocidade de varredura para sistemas em que a etapa determinante da velocidade da reação é controlada pela adsorção da espécie eletroativa na superfície do eletrodo[40,41]. Esta relação é dada pela seguinte equação:

$$I_p = \frac{n^2 F^2 A v \Gamma^*}{4RT} \qquad (5)$$

onde Γ* é a quantidade superficial da espécie adsorvida e os demais termos apresentam os significados citados anteriormente. A Figura 8 apresenta a relação entre corrente de pico e velocidade de varredura.

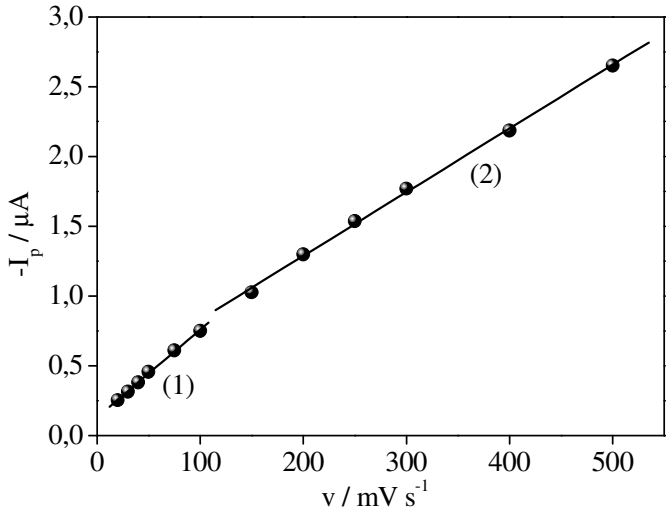

Figura 8: *Relação entre intensidade de corrente de pico e velocidade de varredura obtida a partir de voltamogramas cíclicos de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com diferentes velocidades de varredura.*

Uma forma para confirmar o resultado obtido pela relação entre intensidade de corrente de pico e velocidade de varredura é analisar o coeficiente angular da relação do logaritmo da intensidade de corrente de pico *versus* logaritmo da velocidade de varredura. Se o coeficiente angular for próximo de 0,5 a etapa determinante é a difusão, por outro lado se o coeficiente angular obtido for próximo da unidade a etapa determinante é a adsorção das espécies eletroativas na superfície do eletrodo[42]. A Figura 9 apresenta a relação entre o logaritmo da corrente de pico e o logaritmo da velocidade de varredura

$$\log (I/\mu A) = -7{,}59 + 0{,}74 \log (v/mV\ s^{-1}) \qquad (6)$$

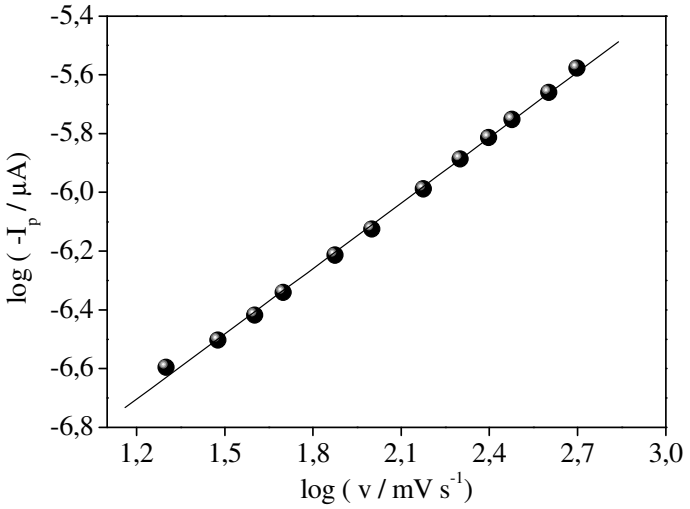

Figura 9: *Relação entre logaritmo da corrente de pico e logaritmo da velocidade de varredura obtida a partir de voltamogramas cíclicos de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com diferentes velocidades de varredura.*

A relação linear obtida apresentou uma inclinação de 0,74 com r = 0,9976 como pode ser visto na equação 6. Pode-se notar que a inclinação apresentou um valor intermediário. A literatura reporta que este comportamento é um indicativo que há um controle misto, ou seja, envolve processos de difusão e de adsorção[42].

4.2 Influência do pH do meio

Na maior parte das determinações analíticas de compostos orgânicos, o pH do meio pode afetar a resposta voltamétrica da molécula em estudo. Por este motivo, a avaliação deste parâmetro é de suma importância. O efeito do pH do eletrólito de suporte na reação de redução eletroquímica do HP foi estudada na faixa de 2,0 a 12,0, utilizando a técnica de voltametria cíclica na faixa de -0,9 V a -1,65 V com v = 20 mV s^{-1}. Os resultados mostraram

que o potencial de pico de redução do HP foi bastante influenciado pela variação do pH do meio, uma vez que apresentou deslocamento para valores mais negativos em função do aumento do pH. Este comportamento é característico de processos onde ocorre protonação da espécie eletroativa antecedendo a transferência de carga[38].

A relação entre potencial de pico de redução e pH do meio apresentou duas regiões de linearidade. A primeira entre os valores de pH variando de 2,0 a 8,0 e a segunda na faixa de pH entre 9,0 a 12,0. As duas regiões de linearidade podem ser representadas pelas equações 7 e 8.

$$\text{Região (1): } -E_p = 1{,}038 + 0{,}051pH \quad (7)$$

$$\text{Região (2): } -E_p = 1{,}227 + 0{,}030pH \quad (8)$$

A Figura 10 apresenta a relação entre potencial de pico e pH, onde se pode observar mudança de inclinação em torno do pH 8,8, o valor de pH onde ocorre a mudança de inclinação pode ser atribuído ao valor do pK_a da molécula[43].

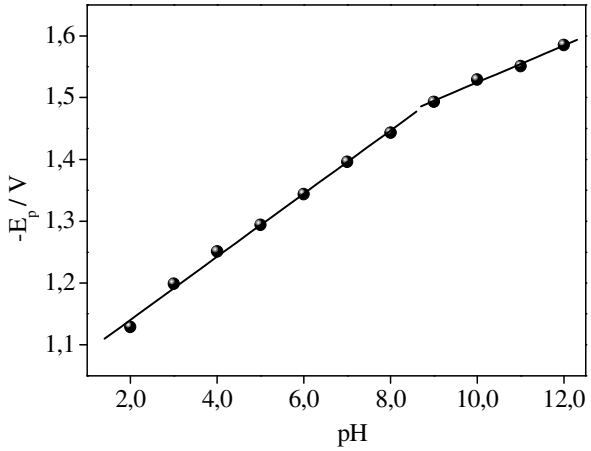

Figura 10: *Relação entre potencial de pico e pH obtida a partir dos voltamogramas cíclicos de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR sobre HMDE com velocidade de varredura de 20 mV s^{-1}.*

Este valor se encontra muito próximo do valor reportado pela literatura, que é de 8,3[44]. A relação linear entre potencial de pico em função do pH apresentou inclinação de 51,0 mV/pH até a inflexão da reta. A partir deste valor a relação entre o número de prótons e elétrons envolvidos na reação pode ser calculada empregando a seguinte equação:

$$E_p = E° - \frac{2{,}303RTm}{\alpha nF} pH \quad (9)$$

onde m é o número de prótons envolvidos na reação e os demais termos mantêm seus significados usuais. A inclinação de 51,0 mV/pH sugere a participação de igual número de prótons e elétrons na reação. Como já foi citado que dois elétrons participam da redução da molécula, tem-se então que a reação consome dois prótons por molécula de HP reduzida.

Ao avaliar a intensidade da corrente de pico em função do pH, foi possível observar que o aumento do pH resultou em aumento da intensidade da corrente de pico chegando em um máximo no pH 10,0 e acima deste valor foi observado um decréscimo da corrente de pico. Então, a diminuição da corrente de pico em meio de tampão BR acima de pH 10,0 pode ser atribuída possivelmente à desprotonação do grupo carbonila da molécula de HP. A Figura 11 ilustra a relação entre intensidade de corrente de pico e pH obtida para a redução de HP.

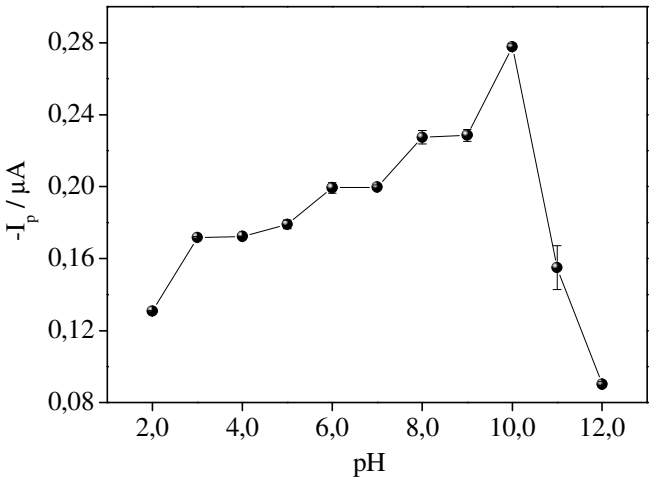

Figura 11: *Relação entre intensidade da corrente de pico e pH obtida a partir dos voltamogramas cíclicos de HP 2,91x10^{-5} mol.L^{-1} em meio de tampão BR sobre HMDE com velocidade de varredura de 20 mV s^{-1}.*

O pH 10,0 foi considerado como valor ótimo no desenvolvimento do procedimento eletroanalítico para a redução de HP sobre HMDE. Isto porque apresentou maior sensibilidade analítica, que está associada a uma maior intensidade dos valores de corrente de pico.

4.3 Voltametria de onda quadrada

A voltametria de onda quadrada é uma das técnicas mais rápidas e sensíveis dentre as outras técnicas de pulso, tais como: voltametrias de pulso normal e pulso diferencial, porque a velocidade final do experimento é dada pelo produto entre a frequência de aplicação dos pulsos e o incremento de potencial, e os limites de detecção podem ser comparados aos das técnicas cromatográficas e espectroscópicas. A sua grande aplicação se deve também ao fato

de que a análise dos resultados e a aplicação dos critérios de diagnósticos possibilitam a avaliação da cinética e mecanismo do processo redox envolvido[29].

4.3.1 Componentes de corrente

Uma forma de avaliar se um sistema é reversível ou irreversível é verificar as componentes de corrente da voltametria de onda quadrada. Isto porque a corrente resultante é obtida pela diferença entre as componentes de corrente nas varreduras direta e reversa, ou seja, as corrente correspondentes aos processos de oxidação e redução das espécies eletroativas podem ser obtidas no mesmo experimento[45].

Com intuito de avaliar o grau de reversibilidade do sistema foi realizado um experimento de voltametria de onda quadrada com a separação das componentes de corrente para a molécula de HP. Foi possível observar que a intensidade da corrente resultante é muito próxima à intensidade de corrente da componente direta, indicando que a contribuição da corrente reversa no final da análise é praticamente insignificante. A Figura 12 traz as três componentes de corrente para o HP sobre HMDE em meio de tampão BR pH 10,0.

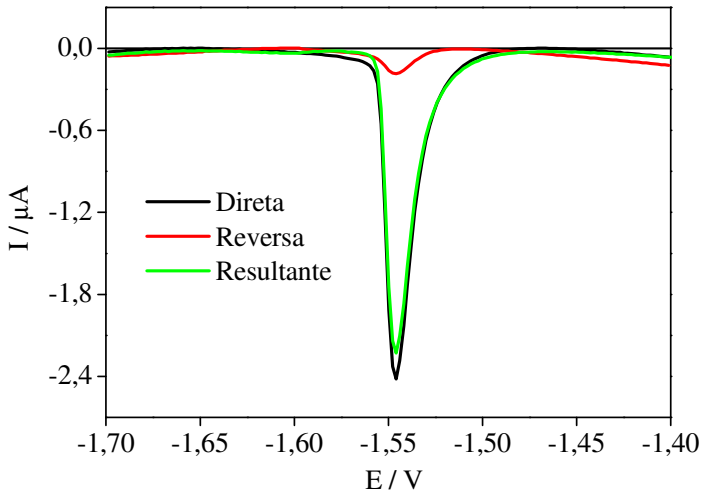

Figura 12: *Componentes de corrente obtidas a partir do voltamograma de onda quadrada de HP 2,9 x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com f =100 s^{-1}, a = 50 mV e ΔE_s = 2 mV.*

A quase coincidência da intensidade de corrente da componente resultante com a intensidade de corrente da componente direta é mais um indício (*vide* o obtido por voltametria cíclica) de que a reação de redução da molécula de HP é totalmente irreversível. As intensidades de corrente das componentes resultante e direta só não são totalmente coincidentes porque há uma pequena contribuição da corrente reversa que está no mesmo

sentido da componente direta. Este comportamento mostra que o pulso de potencial no sentido reverso não consegue reoxidar o produto da reação, mas continua ocorrendo a reação de redução do HP.

4.3.2 Estudo dos parâmetros da voltametria de onda quadrada

Ao utilizar a técnica de voltametria de onda quadrada para o desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica deve-se realizar inicialmente um estudo dos seus parâmetros, sendo eles a frequência de aplicação dos pulsos de potencial (*f*), amplitude dos pulsos de potencial (*a*) e incremento de potencial (ΔE_s). Este estudo tem por finalidade obter as condições otimizadas, ou seja, que forneçam um melhor sinal analítico em termos de intensidade da corrente de pico e perfis voltamétricos bem definidos.

4.3.2.1 Frequência dos pulsos de potencial

O aumento da frequência de aplicação dos pulsos de potencial (*f*) pode ser um dos artifícios utilizados para se obter um aumento no sinal de corrente; isto porque, com este aumento, mais espécies podem sofrer reação redox na superfície do eletrodo, proporcionando uma melhoria na sensibilidade da análise, já que, se todas as outras variáveis forem constantes, a sensibilidade é dada em função apenas da frequência. O estudo foi realizado no intervalo de 10 a 700 s^{-1}. A Figura 13 apresenta os voltamogramas de onda quadrada obtidos para HP em função da variação da frequência.

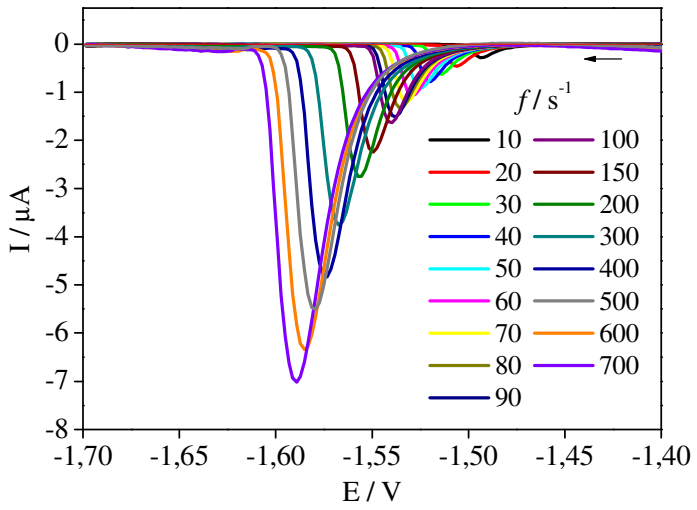

Figura13: *Voltamogramas de onda quadrada de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE em diferentes frequências dos pulsos de potencial com a = 50 mV e ΔE_s = 2 mV.*

Os resultados indicam que o aumento no valor da frequência provocou um aumento na intensidade de corrente de pico e também houve um deslocamento dos potenciais de pico para valores mais negativos.

A voltametria de onda quadrada também pode ser utilizada para determinação do número de elétrons envolvidos na reação redox. De acordo com os critérios diagnósticos da voltametria de onda quadrada, para reações irreversíveis com reagente, ou reagente e produto, adsorvido na superfície do eletrodo existe uma relação linear entre potencial de pico e logaritmo da frequência da aplicação dos pulsos apresentando inclinação de acordo com:[47]

$$\frac{\partial E_p}{\partial \log f} = -\frac{2{,}303RT}{\alpha nF} \tag{10}$$

A variação do potencial de pico com o logaritmo da freqüência é mostrada na equação 11. A Figura 14 apresenta a relação obtida entre o potencial de pico e o logaritmo da freqüência dos pulsos de potencial.

$$-E_p = 1{,}446 + 0{,}0468 \log f \tag{11}$$

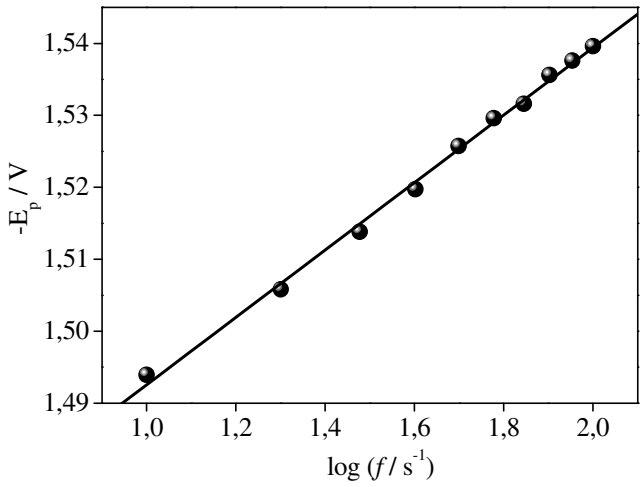

Figura 14: *Relação entre potencial de pico e logaritmo da frequência dos pulsos de potencial obtidos a partir dos voltamogramas de onda quadrada de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com a = 50 mV e ΔE_s = 2 mV.*

A dependência do potencial de pico em função do logaritmo da frequência para HP apresentou inclinação de 0,0468 V dec^{-1} com r = 0,9984. Aplicando este valor na equação 11 foi obtido αn = 1,26, o que corresponde a um valor de coeficiente de transferência de carga igual a 0,63 e dois elétrons (n = 2) envolvidos no processo de redução de cada molécula de HP, ratificando o resultado obtido por voltametria cíclica.

Depois de avaliar a relação do potencial de pico com o logaritmo da freqüência, foi estudada a relação entre intensidade da corrente de pico e frequência de aplicação dos pulsos que apresentou linearidade até 100 s^{-1} com r = 0,9992 conforme pode ser visto na equação 12. A Figura 15 ilustra a relação entre intensidade de corrente de pico e freqüência de aplicação dos pulsos de potencial.

$$-I_p = 1{,}662 \times 10^{-7} + 1{,}483 \times 10^{-8} f \qquad (12)$$

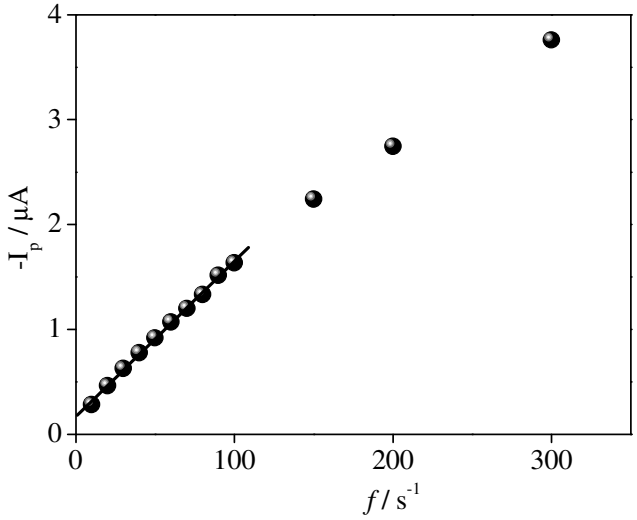

Figura 15: *Relação entre intensidade da corrente de pico e freqüência de aplicação dos pulsos de potencial obtidos a partir dos voltamogramas de onda quadrada de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com a = 50 mV e ΔE_s = 2 mV.*

De acordo com a teoria da voltametria de onda quadrada o comportamento linear da corrente de pico com a freqüência se refere a sistemas totalmente irreversíveis[46,47]. Em frequências acima de 100 s^{-1} foi observado um desvio da linearidade que a literatura reporta como sendo associado a efeitos de resistência da solução, sendo crescente em função do aumento da frequência[47]. Então, o valor de 100 s^{-1} foi selecionado para o desenvolvimento da metodologia eletroanalítica para determinação do HP.

4.3.2.2 Amplitude dos pulsos de potencial

A variação da amplitude (*a*) é outra maneira de obter uma melhor sensibilidade analítica, isto porque, para valores de amplitude maiores que 20 mV, a largura de meia altura ($\Delta E_{p/2}$) se mantém constante. Sistemas redox totalmente irreversíveis apresentam ganho na sensibilidade quando se aumenta a amplitude dos pulsos de potencial[29]. No presente estudo a variação da amplitude foi realizada na faixa de 5 a 80 mV. A Figura 16 apresenta os voltamogramas de onda quadrada obtidos para variação da amplitude dos pulsos.

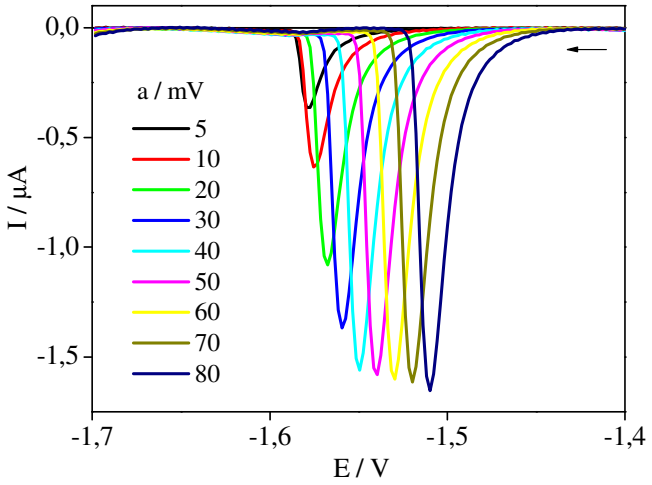

Figura 16: *Voltamogramas de onda quadrada de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE em diferentes amplitudes dos pulsos de potencial com f = 100 s^{-1} e ΔE_s = 2mV.*

Foi observado que o aumento da amplitude provocou um deslocamento dos potenciais de pico para valores mais positivos. O potencial de pico apresentou uma relação linear com a amplitude dos pulsos. O gráfico apresentou uma inclinação de -0,919, como pode ser visto na equação 13. O'Dea e colaboradores[48] mostraram que uma reação de redução totalmente irreversível de moléculas adsorvidas na superfície do eletrodo fornece uma inclinação próxima à unidade. A Figura 17 ilustra a relação entre potencial de pico e amplitude do pulso.

$$-E_p = 1,585 + 0,919\ a \qquad (13)$$

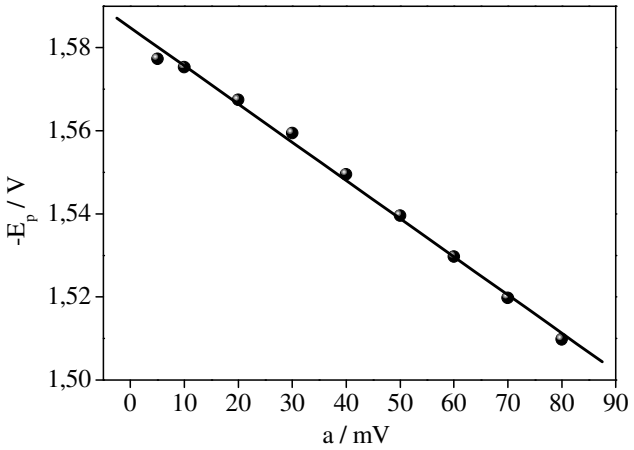

Figura17: *Relação entre potencial de pico e amplitude dos pulsos de potencial obtidos a partir de voltamogramas de onda quadrada de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com f = 100 s^{-1} e ΔE_s = 2 mV.*

Ao avaliar o efeito da amplitude dos pulsos na intensidade da corrente de pico, pode-se observar que há uma linearidade até o valor de 30 mV (r = 0,9999). Acima deste valor praticamente não houve mudanças significativas na intensidade de corrente de pico não oferecendo nenhuma contribuição adicional de sensibilidade para efeitos analíticos. Estes resultados estão de acordo com a teoria da voltametria de onda quadrada para sistemas irreversíveis, pois a mesma afirma que, para amplitudes acima de 50 mV, a corrente de pico é praticamente constante[49].

O desvio da linearidade pode estar associada a uma saturação da superfície do eletrodo causada pela adsorção das moléculas de HP. A Figura 18 mostra a dependência da intensidade da corrente de pico em função da variação da amplitude dos pulsos.

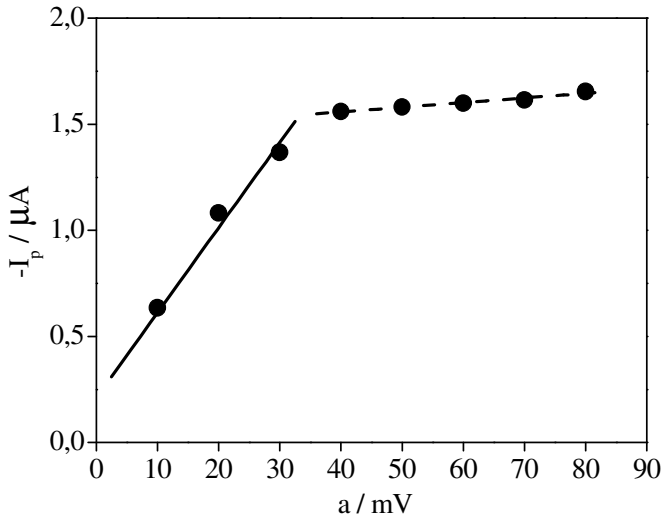

Figura 18: *Relação entre intensidade da corrente de pico e amplitude dos pulsos de potencial obtida a partir de voltamogramas de onda quadrada de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com f = 100 s^{-1} e ΔE_s = 2 mV.*

Para a aplicação analítica, o valor de 30 mV foi selecionado, sendo, desta maneira, considerado como valor otimizado.

4.3.2.3 Incremento de potencial

O incremento de potencial juntamente com a frequência fornecem a velocidade de varredura na voltametria de onda quadrada. A velocidade é dada pelo produto da frequência pelo incremento ($v = f.\Delta E_s$). Como a intensidade de corrente é proporcional à velocidade de varredura, um aumento no ΔE_s pode contribuir de forma positiva para a sensibilidade da técnica. No entanto, os altos valores de incremento podem provocar uma deformação no perfil

dos voltamogramas. O estudo de incremento de varredura foi realizado na faixa de 2 a 10 mV, como pode ser visto na Figura 19.

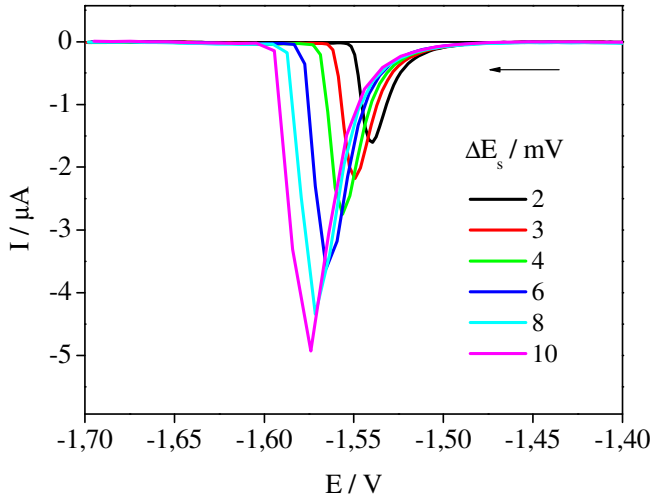

Figura 19: *Voltamogramas de onda quadrada de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE em diferentes incrementos de potencial com f = 100 s^{-1} e a = 5 0mV.*

Os resultados indicam que o aumento do incremento de potencial proporcionou um deslocamento dos potenciais de pico para valores mais negativos, resultado característico de sistemas irreversíveis[48]. A corrente de pico apresentou um crescimento em função do aumento do ΔE_s em todo seu intervalo estudado. A Figura 20 mostra a relação obtida entre corrente de pico e incremento de potencial.

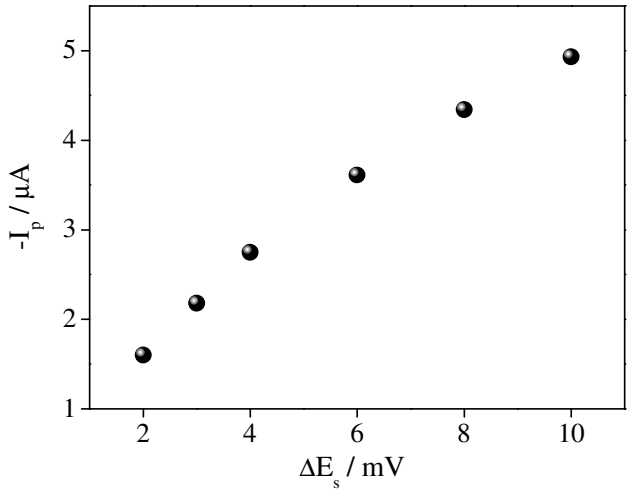

Figura 20: *Relação entre intensidade da corrente de pico e incremento de potencial obtida a partir dos voltamogramas de onda quadrada de HP 2,91x10^{-5} mol L^{-1} em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com f = 100 s^{-1} e a = 50 mV.*

O valor de 2 mV foi escolhido para o desenvolvimento do procedimento analítico por apresentar um menor valor de largura de meia altura ($\Delta E_{p/2}$) como pode ser visto na tabela 2. Valores maiores de incremento de potencial provocam um alargamento dos voltamogramas, comportamento este que pode diminuir a seletividade da metodologia.

Tabela 2: *Valores de largura de meia altura encontrados em função da variação do incremento de potencial.*

ΔE_s / mV	2	3	4	6	8	10
$\Delta E_{p/2}$ / mV	16,6	19,1	19,9	21,5	23,0	27,0

4.5 Construção da curva analítica

Com os parâmetros voltamétricos da SWV otimizados, $f = 100\ s^{-1}$, $a = 30$ mV, $\Delta E_s = 2$ mV, e a partir do pico catódico observado para a redução da molécula de HP foram levantadas curvas analíticas em eletrólito, tampão BR 0,04 mol L^{-1} com pH = 10,0. As curvas foram construídas empregando o método da adição de padrão e, neste procedimento, alíquotas da solução estoque do analito de concentração conhecida foram adicionadas à célula eletroquímica e, imediatamente após cada adição, um voltamograma era obtido. Em seguida foi verificada a correlação entre intensidade da corrente de pico e concentração de HP. A relação matemática proveniente da correlação é chamada de curva analítica. Na prática, uma curva analítica pode ser construída por, no mínimo, cinco pontos que não incluam o ponto zero da curva, devido aos possíveis erros associados[50].

A equação que representa a curva analítica foi calculada empregando o método dos mínimos quadrados, que por sua vez, visa obter a melhor reta, ou seja, aquela que passa através de um conjunto de pontos que apresentam alguma dispersão e não estão perfeitamente localizados sobre uma linha reta[51].

A concentração de HP foi variada no intervalo de $2{,}49 \times 10^{-7}$ a $3{,}38 \times 10^{-6}$ mol L^{-1}. A Figura 21 apresenta os voltamogramas de onda quadrada obtidos para diferentes concentrações de HP.

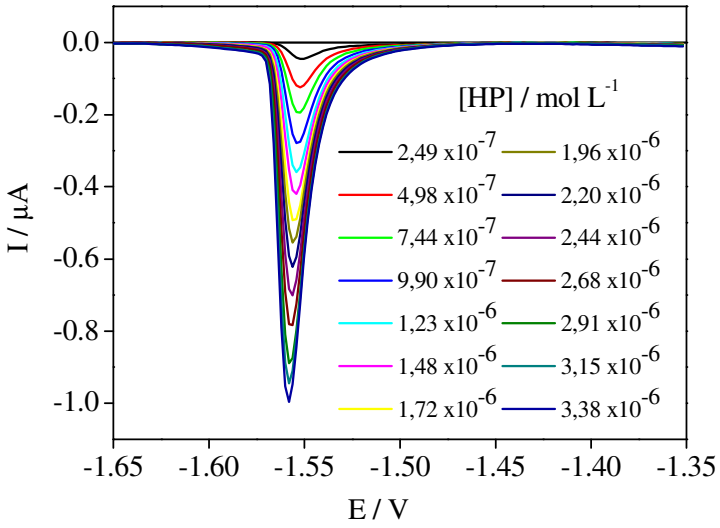

Figura 21: *Voltamogramas de onda quadrada para HP em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com concentrações variando de 2,49x10^{-7} a 3,38x10^{-6}* mol L^{-1} *e f = 100 s^{-1}, a = 30 mV e ΔE_s = 2 mV.*

Foi possível observar que não houve deslocamento dos potenciais de pico e que há um crescimento da corrente de pico em função da concentração. Este comportamento se deve ao aumento da quantidade de espécies eletroativas em torno da superfície do eletrodo fazendo com que mais moléculas possam ser reduzidas. A Figura 22 apresenta a curva analítica com os valores médios (n = 3) e com as respectivas barras de erro para cada ponto da curva obtida para HP sobre HMDE. A equação da reta para a curva analítica com os respectivos intervalos de confiança de 95% para os valores dos coeficientes linear e angular é dada por:

$$-I_p = -1{,}06x10^{-8} \pm 1{,}96x10^{-8} + 0{,}302 \pm 9{,}40x10^{-3}[HP] \qquad (14)$$

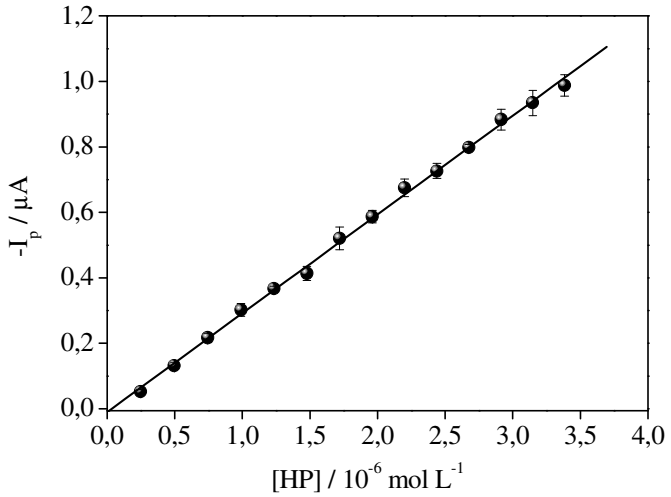

Figura 22: *Curva analítica com as barras de erro obtida para HP em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE obtida no intervalo de concentrações variando de 2,49x10^{-7} a 3,38x10^{-6}* mol L^{-1} *com f = 100 s^{-1}, a = 30 mV e ΔE_s = 2 mV.*

A curva analítica apresentou um aumento proporcional das correntes de pico em função da concentração. Foi obtida uma inclinação de 0,302 A/mol L^{-1} com coeficiente de correlação r = 0,9990, entre todo intervalo de concentração avaliado. A partir das curvas analíticas os valores de limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) foram calculados. LD, por definição, é a menor concentração do analito em análise que pode ser detectada, mas não necessariamente pode ser quantificada, empregando um determinado procedimento experimental. LQ é definido como a menor concentração do analito que pode ser quantitativamente determinada. As relações matemáticas empregadas para o cálculo do LD e LQ foram aquelas recomendadas pela IUPAC[52,53]. As equações podem ser vistas a seguir:

$$LD = \frac{3xS_b}{s} \tag{15}$$

$$LQ = \frac{10xS_b}{s} \tag{16}$$

onde S_b é o desvio padrão da média de dez medidas do branco, tomadas no potencial equivalente àquele do pico de redução de HP e s é a inclinação da curva analítica.

Os resultados obtidos pela metodologia eletroanalítica foram comparados com os valores obtidos pelo método espectrofotométrico na região do UV-Vis, método este que é recomendado pela Farmacopéia Britânica para determinação de HP[36]. Os valores de LD e LQ para o método espectrofotométrico também foram calculados empregando o procedimento recomendado pela IUPAC.

A Tabela 3 apresenta as figuras analíticas de mérito obtidas pela metodologia proposta e pelo procedimento recomendado. As regiões de linearidade (RL), as equações da curva analítica, coeficientes de correlação (r), que determina o grau de linearidade da correlação entre a concentração de HP e as correntes de pico, o desvio padrão da média aritmética dos dez brancos (S_b), os limites de detecção (LD), os limites de quantificação (LQ), a repetibilidade (%RSD) e reprodutibilidade (%RSD). Todos os dados foram obtidos em triplicata e os resultados mostrados aqui apresentam a média dos valores obtidos.

Tabela 3. *Parâmetros obtidos a partir das curvas analíticas obtidos na determinação de HP empregando voltametria de onda quadrada (SWV) e UV-Vis em eletrólito de suporte.*

Parâmetro	**SWV**	**UV-Vis**
RL (mol L^{-1})	$2{,}49x10^{-7}$ a $3{,}38x10^{-6}$	$1{,}00x10^{-7}$ a $1{,}50x10^{-6}$
Equação da curva	$I_p = -1{,}06x10^{-8} + 0{,}302[HP]$	$Abs = 1{,}19x10^{-3} + 0{,}02[HP]$
r	0,9990	0,9955
S_b	$4{,}78x10^{-10}$ (A)	$4{,}94x10^{-4}$ (u.a)
LD (mol L^{-1})	$4{,}75x10^{-9}$ (1,78 µg L^{-1})	$7{,}32x10^{-8}$ (27,51 µg L^{-1})
LQ (mol L^{-1})	$1{,}58x10^{-8}$ (5,94 µg L^{-1})	$2{,}44x10^{-7}$ (91,71 µg L^{-1})
RSD (repetibilidade)	1,89% (n = 12)	1,85% (n = 12)
RSD (reprodutibilidade)	2,33% (n = 7)	1,56% (n = 7)

O intercepto da equação da curva analítica apresentou um valor negativo. O valor considerado como real para intercepto é zero. Entretanto, erros aleatórios fazem com que o valor medido raramente seja exatamente igual ao valor real. Para decidir se a diferença entre o valor medido e o valor padrão pode ser atribuído a esses erros aleatórios, um teste estatístico, conhecido como teste de significância, pode ser empregado[54]. A equação para realizar o teste de significância pode ser vista a seguir:

$$t = (\bar{x} - \mu)\frac{\sqrt{n}}{s} \tag{17}$$

onde $\bar{x}$ é a média das amostras, µ é o valor considerado como verdadeiro, s é o desvio padrão da média e n é o número de determinações. O valor de t calculado foi comparado com t crítico para um nível de 95% de confiança. O valor de t calculado obtido foi de 2,21, como o valor foi menor do que o t crítico de 4,30, indicando que não houve diferença significativa entre o valor médio do intercepto e o valor zero, a um nível de 95% de confiança.

Os valores de limite de detecção e de quantificação calculados a partir do procedimento proposto foram de 1,78 µg L^{-1} ($4{,}75x10^{-9}$ mol L^{-1}) e 5,94 µg L^{-1} ($1{,}58x10^{-8}$ mol L^{-1}), respectivamente. Estes valores foram maiores do que os valores publicados na literatura no trabalho de Yasui-Furukori e colaboradores, onde foi realizada a determinação de HP empregando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com coluna C18 e detector de UV, onde foi obtido LD de 0,5 µg L^{-1} e LQ de 1,0 µg L^{-1}[55]. Todavia, os valores obtidos na metodologia eletroanalítica desenvolvida neste trabalho foram bem menores em relação aos valores obtidos por Shamsipur e colaboradores[27], que utilizaram a técnica de Ressonância

Magnética Nuclear (RMN) de ^{19}F para determinação de HP, neste trabalho, os valores de limite de detecção e quantificação obtidos foram de 1,4 mg L^{-1} e 20,0 mg L^{-1}, respectivamente.

Além disto, os resultados obtidos pela metodologia eletroanalítica foram menores que os valores de LD e LQ obtidos pelo método recomendado pela Farmacopéia Britânica, que foram de 27,51 µg L^{-1} ($7{,}32 \times 10^{-8}$ mol L^{-1}) e 91,71 µg L^{-1} ($2{,}44 \times 10^{-7}$ mol L^{-1}), respectivamente. Sugerindo, desta forma, que a metodologia eletroanalítica apresentou sensibilidade satisfatória e que pode ser empregada para determinação em níveis de traços.

Os ensaios de repetibilidade (*intra-day*), envolvendo doze medidas em um mesmo dia, e reprodutibilidade (*inter-day*), envolvendo sete medidas em dias diferentes, foram realizadas com soluções de HP $9{,}90 \times 10^{-7}$ mol L^{-1} para avaliar a precisão da metodologia eletroanalítica em desenvolvimento. A precisão representa a dispersão dos resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, sob condições definidas. Uma forma de estimar a precisão do procedimento é utilizando o desvio padrão relativo (RSD), também conhecido como coeficiente de variação, que é fornecido pela equação

$$\%RSD = \frac{s}{\bar{x}} x100 \qquad (18)$$

onde s é o desvio padrão da média das correntes de pico e $\bar{x}$ é a média do valores de corrente de pico. Os valores de desvio padrão relativo (RSD) para repetibilidade e reprodutibilidade foram 1,89% e 2,33%, respectivamente. Estes resultados conferem à metodologia desenvolvida uma ótima precisão, possibilitando sua aplicação em amostras complexas.

4.6 Estudos de recuperação

Para avaliação da eficiência da metodologia proposta foram realizados testes de recuperação. Segundo a IUPAC a recuperação é definida como a proporção da quantidade do analito de interesse, presente ou adicionada na porção analítica do material teste, que é extraído e passível de ser quantificado[56]. O método da adição de padrão foi empregado nos testes de recuperação. Neste método, quantidades conhecidas do analito são adicionadas a uma amostra desconhecida e a partir do aumento do sinal analítico é deduzido quanto do constituinte estava presente na amostra original. A taxa de recuperação foi avaliada utilizando-se o método gráfico, onde o eixo x forneceu a concentração de padrão adicionado

ao eletrólito e a extrapolação neste eixo mostrou a concentração desconhecida. O valor da recuperação foi calculado de acordo com a seguinte equação:

$$\%R = \frac{[HP]_{encontrada}}{[HP]_{adicionada}} x100 \qquad (19)$$

Os experimentos de recuperação podem ainda representar de forma estatística a exatidão de um método proposto. A exatidão representa o grau de concordância, proximidade entre os resultados obtidos pelo método desenvolvido e os valores nominais, aceitos como referência. A exatidão pode ser expressa pelo parâmetro %BIAS, podendo ser calculado pela seguinte equação[57]:

$$\%BIAS = \frac{\left(\overline{X} - X_0\right)}{X_0} x100 \qquad (20)$$

onde $\overline{x}$ é o valor médio das concentrações recuperadas e x_0 é o valor de concentração adicionada. Todos os resultados obtidos com os experimentos de recuperação foram comparados com aqueles obtidos por UV-Vis.

A recuperação foi realizada primeiramente em eletrólito usando uma solução estoque de HP $1{,}0x10^{-4}$ mol L^{-1}. A Figura 23 apresenta os voltamogramas e a curva de recuperação para HP em eletrólito.

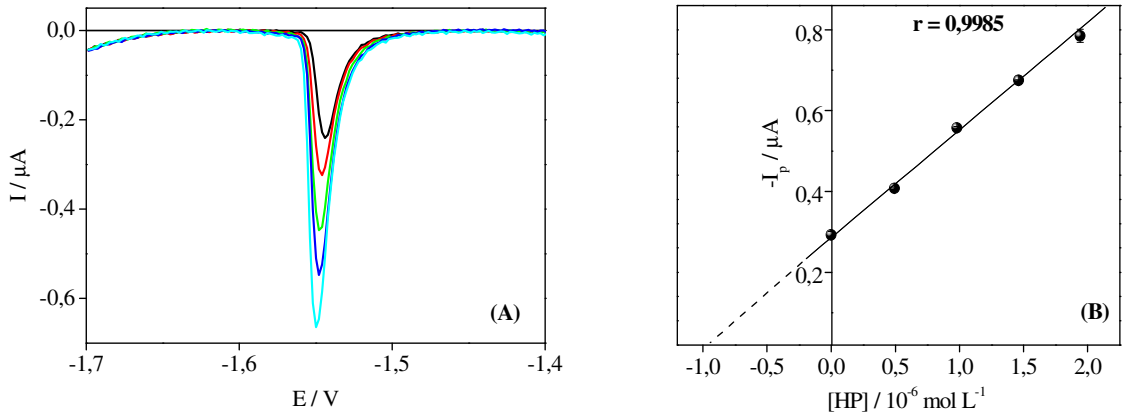

Figura 23: *A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos em diferentes concentrações para recuperação no eletrólito em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com f = 100 s^{-1}, a = 30 mV e ΔE_s = 2 mV. B) Relação entre corrente de pico e concentração de HP para curva de recuperação em eletrólito.*

A curva de recuperação apresentou uma inclinação de 0,222 A/mol L^{-1} com r = 0,9985. A equação da reta para a intensidade da corrente de pico em função da concentração de HP foi

$$-I_p = 2{,}214 \times 10^{-7} + 0{,}222\ [HP] \qquad (21)$$

A Tabela 4 apresenta os dados de recuperação obtidos em triplicata por voltametria de onda quadrada e UV-Vis.

Tabela 4: *Resultados de recuperação para HP em eletrólito obtidos por voltametria de onda quadrada sobre HMDE e por UV-vis.*

SWV			
Replicata	**$[HP]_{adicionada}$ / mol L^{-1}**	**$[HP]_{encontrada}$ / mol L^{-1}**	**Recuperação (%)**
1	$9{,}90 \times 10^{-7}$	$10{,}58 \times 10^{-7}$	106,90
2		$10{,}53 \times 10^{-7}$	106,33
3		$10{,}43 \times 10^{-7}$	105,32
Média		$10{,}51 \times 10^{-7}$	106,18
UV-Vis			
1	$12{,}50 \times 10^{-7}$	$11{,}71 \times 10^{-7}$	93,68
2		$11{,}99 \times 10^{-7}$	95,92
3		$11{,}95 \times 10^{-7}$	95,60
Média		$11{,}88 \times 10^{-7}$	95,07

A recuperação média encontrada para metodologia eletroanalítica foi de 106,18 % com RSD de 0,75 % e BIAS de 6,16 %. Os resultados obtidos por UV-Vis apresentaram recuperação média de 95,07 % e RSD de 1,27 % e BIAS de -4,96%.

Os percentuais de recuperação próximos a 100% em eletrólito e o baixo valor de RSD podem indicar que as espécies iônicas presentes na solução de tampão BR não interferem na exatidão e na precisão do procedimento. Os resultados mostraram que a porcentagem média de recuperação encontrada por voltametria de onda quadrada encontram-se dentro da faixa aceitável para metodologias analíticas que é de 70% a 130%[58], da mesma forma que a porcentagem média de recuperação dada por UV-Vis.

4.6.1 Aplicação do procedimento em amostras comerciais

Para aplicação da metodologia eletroanalítica em amostras complexas foram utilizadas duas formulações farmacêuticas de HP encontradas no Brasil, comprimidos e solução oral de Haldol®. O comprimido apresenta uma dosagem nominal de 1mg/comprimido e a solução oral, 2mg/mL. A primeira formulação comercial estudada foi a de comprimidos. Os resultados de recuperação obtidos por voltametria de onda quadrada foram comparados com os resultados obtidos por UV-Vis, com o intuito de comparar a eficiência do procedimento proposto frente ao procedimento espectrofotométrico recomendado pela Farmacopéia Britânica. A Figura 24 apresenta os voltamogramas de onda quadrada e a curva de recuperação para amostras de comprimido Haldol®.

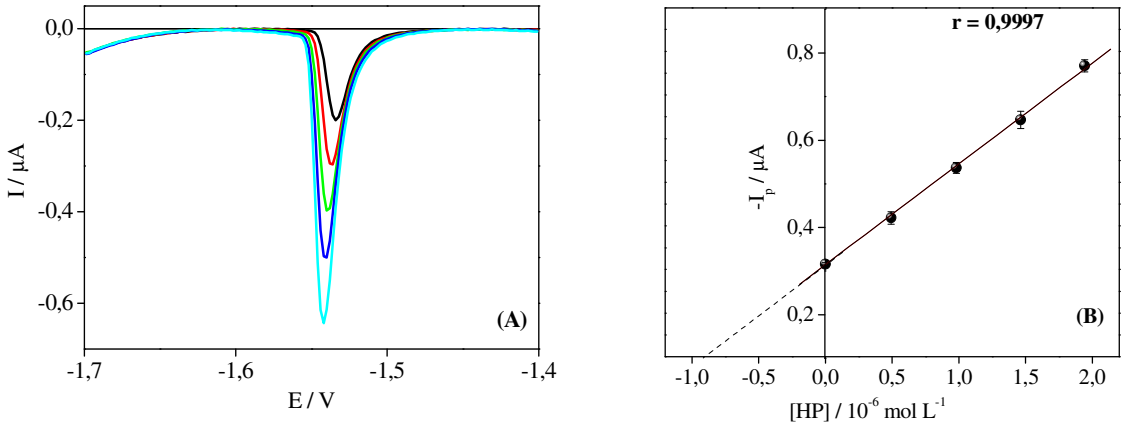

Figura 24: *A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos em diferentes concentrações para recuperação em amostra de comprimido Haldol® em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com f = 100 s^{-1}, a = 30 mV e ΔE_s = 2 mV. B) Relação entre corrente de pico e concentração de HP para curva de recuperação em amostra de comprimido Haldol®.*

Os voltamogramas apresentados na Figura 24A não apresentaram deslocamento dos potenciais de pico, mostrando que a matriz do comprimido não influenciou no perfil voltamétrico. A curva de recuperação mostrada na Figura 24B apresentou um coeficiente de correlação r = 0,9997 e uma inclinação de 0,231 A/mol L^{-1} . A equação da reta para a intensidade da corrente de pico em função da concentração de HP obtida foi

$$-I_p = 2{,}113 \times 10^{-7} + 0{,}231\ [HP] \qquad (22)$$

A Tabela 5 mostra os dados de recuperação obtidos em triplicata por voltametria de onda quadrada e UV-Vis para amostra de comprimido Haldol®.

Tabela 5: *Resultados de recuperação para HP em amostra de comprimido Haldol® obtidos por voltametria de onda quadrada sobre HMDE e por UV-vis.*

SWV			
Replicata	**$[HP]_{adicionada}$ / mol L^{-1}**	**$[HP]_{encontrada}$ / mol L^{-1}**	**Recuperação (%)**
1	$9{,}90 \times 10^{-7}$	$8{,}39 \times 10^{-7}$	84,71
2		$9{,}05 \times 10^{-7}$	91,42
3		$9{,}09 \times 10^{-7}$	91,84
Média		$8{,}84 \times 10^{-7}$	89,32
UV-Vis			
1	$12{,}50 \times 10^{-7}$	$13{,}84 \times 10^{-7}$	110,72
2		$13{,}68 \times 10^{-7}$	109,44
3		$13{,}45 \times 10^{-7}$	107,60
Média		$13{,}66 \times 10^{-7}$	109,25

A recuperação média de 89,32 % com RSD de 4,48 % e BIAS de -10,68 % obtidas para HP nos comprimidos de Haldol®. A partir deste resultado pode-se afirmar que a metodologia eletroanalítica foi eficiente por ter apresentado percentuais dentro da faixa satisfatória para metodologias analíticas citada anteriormente. A metodologia espectrofotométrica apresentou resultados satisfatórios, com uma recuperação média de 109,25 % com RSD de 1,43 % e BIAS de 9,28 %. Os resultados apresentados sugerem que a metodologia eletroanalítica desenvolvida é satisfatória, de acordo com a metodologia apresentada pela Farmacopéia Britânica para determinação de HP em formulações comerciais.

A segunda formulação comercial utilizada para o desenvolvimento da metodologia eletroanalítica foi a solução oral de Haldol®. Esta matriz contém metilparabeno e propilparabeno, compostos fenólicos que são adicionadas à solução oral para atuarem como conservantes, que podem interferir na determinação na HP[18]. Os voltamogramas de onda quadrada e a curva de recuperação para amostra de solução oral são apresentadas na Figura 25.

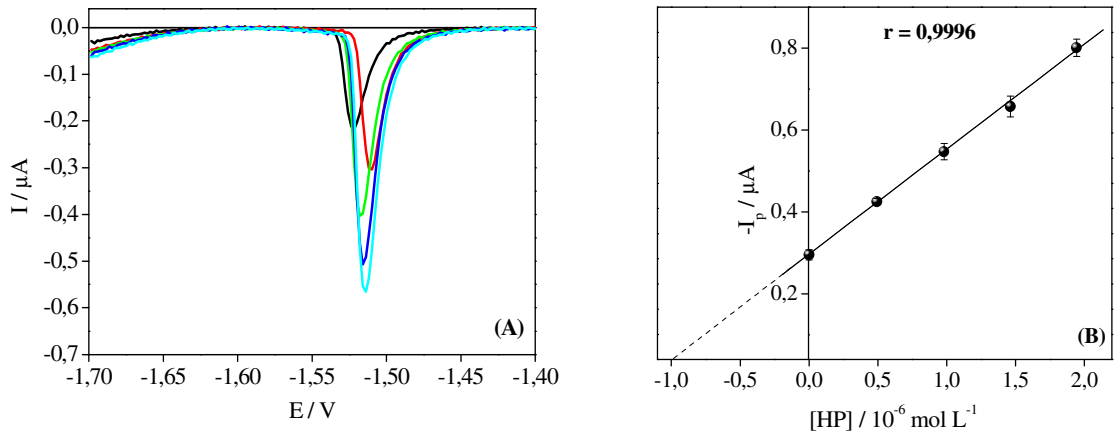

Figura 25: *A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos em diferentes concentrações para recuperação em amostra de solução oral Haldol® em meio de tampão BR pH 10,0 sobre HMDE com f = 100 s^{-1}, a = 30 mV e ΔE_s = 2 mV. B) Relação entre corrente de pico e concentração de HP para curva de recuperação em amostra de solução oral Haldol®.*

Os voltamogramas apresentaram deslocamento dos potenciais de pico, possivelmente gerado por efeitos de adsorção causados pela presença de outras substâncias na amostra de solução oral. A curva de recuperação mostrada na Figura 25B apresentou uma inclinação de 0,209 A/mol L^{-1} com r = 0,9996. A equação da reta para a intensidade da corrente de pico em função da concentração de HP obtida foi

$$-I_p = 2{,}093 \times 10^{-7} + 0{,}209\ [HP] \qquad (23)$$

A Tabela 6 apresenta os resultados obtidos a partir das curvas de recuperação realizadas em amostras de solução oral Haldol®.

Tabela 6: *Resultados de recuperação para HP em amostra de solução oral Haldol® obtidos por voltametria de onda quadrada sobre HMDE e por UV-vis.*

SWV			
Replicata	**$[HP]_{adicionada}$ / mol L^{-1}**	**$[HP]_{encontrada}$ / mol L^{-1}**	**Recuperação (%)**
1	$9{,}90 \times 10^{-7}$	$10{,}35 \times 10^{-7}$	104,59
2		$9{,}96 \times 10^{-7}$	100,63
3		$9{,}56 \times 10^{-7}$	96,61
Média		$9{,}56 \times 10^{-7}$	100,61
UV-Vis			
1	$12{,}50 \times 10^{-7}$	$9{,}01 \times 10^{-7}$	72,08
2		$9{,}49 \times 10^{-7}$	75,95
3		$8{,}36 \times 10^{-7}$	66,89
Média		$8{,}96 \times 10^{-7}$	71,64

O percentual médio de recuperação de 100,61% com RSD de 3,96 % e BIAS de 0,61 % obtido pela metodologia eletroanalítica mostra que a presença de metilparabeno e de propilparabeno não influenciaram de forma significativa as análises, pois o valor médio de recuperação foi bem próximo do valor real. A literatura reporta que umas das vantagens das técnicas eletroanalíticas é a de apresentar uma baixa sensibilidade em relação à presença de interferentes[29]. Todavia, estas substâncias presentes na solução oral influenciaram nos resultados fornecidos pelo método espectrofotométrico, pois o percentual médio de recuperação foi de 71,64 % com RSD de 6,34% e BIAS de -28,36 %. A comparação realizada com as duas metodologias mostrou que uma maior exatidão e precisão podem ser obtidas pela metodologia eletroanalítica em relação ao método espectrofotométrico.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Haloperidol apresentou um pré-pico de adsorção e um processo de redução irreversível. O potencial de pico do processo referente à redução de HP foi deslocado para valores mais negativos em função do aumento do pH, mostrando que seu mecanismo de redução envolve uma prévia protonação da espécie seguida do processo redox. Por voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada foi possível calcular o número de elétrons envolvidos na reação igual a dois, relacionados à redução do grupo carbonila. Em relação a parte analítica, maior sensibilidade e melhor definição do perfil voltamétrico foram obtidos em tampão BR 0,04 mol L^{-1}, pH = 10,0, e com os parâmetros otimizados f = 100 s^{-1}, a = 30 mV e ΔE_s = 2 mV.

Os limites de detecção e de quantificação obtidos pela metodologia eletroanalítica foram $4{,}75 \times 10^{-9}$ mol L^{-1} (1,78 μg L^{-1}) e $1{,}58 \times 10^{-8}$ mol L^{-1}(5,94 μg L^{-1}), respectivamente. Estes valores foram, no mínimo, uma ordem de grandeza menor que os obtidos com o método espectrofotométrico na região do UV-Vis onde foram encontrados limites de detecção e de quantificação de $7{,}32 \times 10^{-8}$ mol L^{-1}(27,51μg L^{-1}) e de 2,44 x 10^{-7} mol L^{-1} (91,71 μg L^{-1}), respectivamente. Ao comparar os resultados obtidos pela metodologia proposta e o método espectrofotométrico recomendado pela Farmacopéia Britânica pode-se afirmar que uma maior sensibilidade foi obtida ao empregar SWV.

Os experimentos realizados para avaliar repetibilidade e reprodutibilidade apresentaram valores de RSD abaixo de 3%, mostrando uma ótima precisão.

O percentual médio de recuperação de 106,18% com RSD de 0,75% foram obtidos para HP em eletrólito, indicando eficiência da metodologia proposta. Os percentuais médios de recuperação obtidos para comprimido de Haldol®, aplicando os procedimentos eletroanalítico e espectrofotométrico foram: 89,32% (RSD = 4,48%) e 109,25% (RSD = 1,43), respectivamente. Enquanto que para solução oral de Haldol® os resultados foram: 100,61% (RSD = 3,96%) e 71,64% (RSD = 6,34%), respectivamente. Estes percentuais se encontraram dentro da faixa aceitável de porcentagem de recuperação, da mesma forma que as porcentagens obtidas por UV-Vis indicando que a metodologia apresentou eficiência semelhante frente à metodologia recomendada pela Farmacopéia Britânica. Os resultados obtidos mostram que a metodologia se apresentou eficiente para determinação de HP em formulações comerciais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] SILVA, R. A.; **Aminação redutiva de aldeídos e cetonas promovida por zinco em meio aquoso**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, 2007.

[2] BILA, D. M.; DEZOTTI, M.; ***Química Nova***, 26 (2003) 523.

[3] ALONSO, S. G.; CATALÁ, M.; MAROTO, R. R.; GIL, J. R. L.; MIGUEL, A. G.; VALCÁRCEL, Y.; ***Environment International***, 36 (2010) 195.

[4] FATTA, D.; NIKOLAOU, A.; ACHILLEOS, A.; MERIÇ, S.; ***Trends in Analytical Chemistry***, 26 (2007) 515.

[5] MOMPELAT, S.; LEBOT, B.; THOMAS, O.; ***Environment Internacional***, 35 (2009) 803.

[6] BRUNELLI, T. F. T.; GUARALDO, T. T.; PASCHOAL, F. M. M.; ZANONI, M. V. B.; ***Química Nova***, 32 (2009) 67.

[7] BRUNTON, L. L., LAZO, J. S., PARKER, K. L.; ***As Bases Farmacológicas da Terapêutica***. Rio de Janeiro, McGraw-Hill, 2007.

[8] MENEGATTI, R.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E.; LIMA, V. L. E.; RATES, S. M. K.; COSTA, T. D.; ***Química Nova***, 27 (2004) 447.

[9] http://www.psiqweb.med.br, Acesso em 17/04/2010.

[10] HANAGAMA, M.; INOVE, H.; KAMIYA, M.; SHINONE, K.; NATA, M.; ***Legal Medicine***, 10 (2008) 177.

[11] SIKAZWE, D. M. N.; LI, S.; LYLES-EGGLESTON, M.; ABLORDEPPEY, S. Y.; ***Bioorganic and Medicinal chemistry Letters***, 13 (2003) 3779.

[12] TITIER, K.; BOUCHET, S.; PÉHOUREQ, F.; MOORE, N.; MOLIMARD, M.; ***Journal of Chomatography B***, 788 (2003) 179.

[13] KANEKO, T.; KOJIMA, K.; YASUDA, K.; ***The Analyst***, 132 (2007) 892.

[14] PARK, S. W.; LEE, C. H.; LEE, J. C.; LEE, S. J.; KIM, N. R.; CHOI, S. M.; KIM, Y. H.; ***Journal of Psychiatric Research***, 43 (2009) 274.

[15] REGENTHOL, R.; KRUEGER, M.; KOEPPEL, C.; PREISS, R.; ***Journal of Clinical and Computing***, 15 (1999) 529.

[16] MARGONATO, F. B.; BONETTI, M. F. S.; NISHIYAMA, P.; ***Infarma***, 16 (2004) 81.

[17] DLABOGA, D.; HAJJHUSSEIN, H.; O'DONNELL, J. M.; ***Neuropharmacology***, 54 (2008) 745.

[18] OUANÊS, S.; KALLEL, M.; TRABELSI, H.; SAFTA, F.; BOUZOUITA, K.; ***Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis***, 17 (1998) 361.

[19] WU, S. M.; KO, W. K.; WU, H. L.; CHEN, S. H.; ***Journal of Chomatography A***, 846 (1999) 239.

[20] ARINOBU, T.; HATTORI, H.; IWAI, M.; ISHII, A.; KUMAZAWA, T.; SUZUKI, O.; SENO, H.; ***Journal of Chromatography B***, 776 (2002) 107.

[21] TRABELSI, H.; SINGH, BOUABDALLAH, S.; BOUZOUITA, K.; SAFTA, F.; ***Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis***, 29 (2002) 649.

[22] YASUI-FURUKORI, N.; INOVE, Y.; CHIBA, M.; TATEISHI, T.; ***Journal of Chomatography B***, 805 (2004) 175.

[23] SINGH, S. S.; SHARMA, K.; ***Analytica Chemica Acta***, 551 (2005) 159.

[24] MENNICKENT, S.; PINO, L.; VEGA, M.; GODOY, C. G.; DIEGO, M.; ***Journal of Separation Scence***, 30 (2007) 772.

[25] KUMAZAWA, T.; SAEKI, K.; YANAGISAWA, I.; UCHIGASAKI, S.; HASEGAWA, C.; SENO, H.; SUZUKI, O.; SATO, K.; ***Analytical and Bioalaytical Chemistry***, 394 (2009) 1161.

[26] PUJADAS, M.; PICHINI, S.; CIVIT, E.; SANTAMARINÃ, E.; PEREZ, K.; TORRE, R.; ***Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis***, 44 (2007) 594.

[27] SHAMSIPUR, M.; SHAFIEE-DASTGERDI, L.; TALEPOUR, Z.; HAGHGOO, S.; ***Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis***, 43 (2007) 844.

[28] RIBEIRO, F. W. P.; CARDOSO, A. S.; PORTELA, R. R.; LIMA, J. E. S.; MACHADO, S. A. S.; LIMA-NETO, P.; DE SOUZA, D.; CORREIA, A. N.; ***Electroanalysis,*** 20 (2008) 2031.

[29] DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A.; ***Química Nova***, 26 (2003) 81.

[30] VIRE, J. C.; FISCHER, M.; PATRIARCHE, G. J.; ***Talanta***, 28 (1981) 313.

[31] BISHOP, E.; HUSSEIN, W.; ***The Analyst***, 109 (1984) 139.

[32] TUZHI, P.; ZHONGPING, Y.; RONGSHAN, L.; ***Talanta***, 38 (1991) 741.

[33] EL-DESOKY, H. S.; GHONEIM, M. M.; ***Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis***, 38 (2005) 543.

[34] BRITTON, H. T. K.; ROBINSON, R. A.; ***Journal Chemistry Society,*** (1931), 1456.

[35] SKRZYPEK, S.; MIRCESKI, V.; CIESIELELSKI, W.; SOKOLOWSKI, A.; ZAKRZEWSKI, A.; ***Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis***, 45 (2007) 275.

[36] LEA, A. R.; HAILEY, D. M.; DUGUID, P. R.; ***Journal of Chronmrography,*** 250 (1982) 35.

[37] LAWTON, R. S.; YACYNYCH, A. M.; ***Analytical Chemistry***, 53 (1981) 1523.

[38] Bard, A. J.; FAULKNER, L. R.; ***Electrochemical Methodos Fundamentals and Applications,*** Wiley, New York, 2001.

[39] RADI, A.; ***Microchemical Journal***, 72 (2002) 35.

[40] GAO, L.; WU, Y.; LIU, J.; YE, B.; ***Journal of Electroanalytical Chemistry***, 610 (2007) 131.

[41] WANG, J.; ***Analytical Electrochemistry***, Wiley, New York, 2000.

[42] GOSSER, JR. K. D.; ***Cyclic Voltammetry: Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms***, New York, UCH Publishers., 1993.

[43] COMPTON, R. G.; BANKS, C. E., ***Understanding Voltammetry***, World Scientific Publishing, USA, 2007.

[44] LIDE, D. R.; ***Handbook of Chemistry and Physics***, New York, CRC Press, 2008.

[45] BRETT, A. M. O.; BRETT, C. M. A.; ***Electroquímica Princípios, Métodos e Aplicações***, Coimbra, Livraria Almedina, 1996.

[46] WEBBER, A.; SHAH, M.; OSTERYOUNG, J.; ***Analytica Chimica Acta***, 154 (1983) 105.

[47] MIRCESKI, V.; KOMORSKY-LOVRIC, S.; LOVRIC, M.; ***Square Wave Voltammetry Theory and Application***, Springer, República da Macedônia, 2007.

[48] O'DEA, J. J.; RIBES, A.; OSTERYOUNG, J. G.; ***Journal Electroanalytical Chemistry***, 345 (1993) 287.

[49] DE SOUZA, D.; ***Estudos mecanísticos da redução do herbicida picloram por voltametria de onda quadrada***. Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, 2000.

[50] THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R.; ***Pure And Applied Chemistry***, 74 (2002) 835.

[51] HARRIS, D. C.; ***Análise Química Quantitativa***, LTC, Rio de Janeiro, 2008.

[52] MOCAK, J.; BOND, M.; MITCHEL, S.; SCOLLARY, G.; ***Pure And Applied Chemistry***, 69 (1997) 297.

[53] Analytical Methods Committee, **Analyst**, 112 (1987) 199.

[54] MILLER, J. N.; MILLER, J. C.; ***Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry***, Pearson Prentice Hall, UK 2005.

[55] YASUI-FURUKORI, N,; INOUE, Y.; CHIBA, M.; TATEISHI, T.; ***Journal of Chromatography B***, 805 (2004) 175.

[56] THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; FAJGELJ, A.; WILLETTS, P.; WOOD, R.; ***Pure And Applied Chemistry***, 71 (1999) 337.

[57] PRICHARD, E.; BARWICK, V.; ***Quality Assurance in Analytical Chemistry***, New York, Wiley, 2007.

[58] ICH-Q2Bn - ***Validations of analytical procedures: methodology (International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use)***. Geneva, Switzerland, November 1996.