



Grupo de Estudos de Processos

Eletroquímicos e Eletroanalíticos

Coordenador: Prof. Dr. Almir Spinelli



**Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Físicas e Matemáticas
Departamento de Química**

***DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA DE TEOFILINA
EM PRODUTO FARMACÊUTICO***

Franciani Becker Roloff

Florianópolis - 2006

Franciani Beker Roloff

***DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA DE TEOFILINA
EM PRODUTO FARMACÊUTICO***

Trabalho de Conclusão de curso apresentado
à disciplina QMC 5510 – Estágio
Supervisionado, do curso de Graduação em
Química, da Universidade Federal de Santa
Catarina, desenvolvido no semestre 2006.1.

Orientador: Prof. Dr. Almir Spinelli.

Florianópolis, agosto 2006.

AGRADECIMENTOS

Esse estágio foi desenvolvido no GEPEEA – Grupo de Estudos de Processos Eletroquímicos e Eletroanalíticos, situado no laboratório 310 do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, sob orientação do Prof. Dr. Almir Spinelli.

Ao Prof. Dr. Almir Spinelli pela oportunidade dada para o desenvolvimento deste estudo, mas principalmente por toda sua dedicação, orientação e assistência.

À banca examinadora, prof^a Iolanda da Cruz Vieira e doutoranda Adriana Santana, por terem aceito o convite para participarem de minha banca.

A meus pais e meu irmão, por acreditarem, por me apoiarem, por serem os maiores incentivadores de todos meus projetos de vida, que sempre me estenderam as mãos, nunca me deixando fraquejar. Amo muito vocês.

Ao meu namorado Rodrigo, pelo amor, pela atenção, pela paciência.

Aos colegas Lidiane e Otoniel, pelo incentivo, pelos conselhos e principalmente pela amizade.

A Cristine e a Ana Karina, pois sem elas tudo teria se tornado mais difícil, pela colaboração e pelos ensinamentos.

A toda equipe do GEPEEA em especial a Nise e Édna.

Às garotas da República do Batalhão, Luísa, Fernanda e Letícia pelo apoio e convívio durante todos estes anos.

A todo Corpo Docente do Departamento de Química desta Universidade, que contribuíram com minha formação.

E a todas as demais pessoas que de uma forma ou de outra sempre estiveram ao meu lado me ajudando, independente a maneira.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
1.1. Teofilina.....	9
1.2. Xantinas	10
1.3. Aminofilina e métodos de determinação	11
1.4. Métodos eletroanalíticos	12
1.5. Validação de métodos analíticos	14
2. OBJETIVOS	16
3. PARTE EXPERIMENTAL	17
3.1. Reagentes	17
3.2. Métodos eletroquímicos.....	17
3.2.1. Voltametria cíclica	17
3.2.2. Estudo da adição de padrão e determinação de teofilina	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
4.1. Comportamento eletroquímico da teofilina	19
4.1.1. Perfil Voltamétrico	19
4.1.2. Influência da velocidade de variação de potencial (v).....	20
4.1.3. Influência do pH	24
4.1.4. Influência da concentração	26
4.1.5. Curva de calibração	27
4.1.6. Determinação de teofilina em composição farmacêutica	29
5. CONCLUSÃO	33
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:.....	34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química da teofilina	9
Figura 2: Estrutura química da aminofilina	11
Figura 3: Programa de potencial empregado na voltametria cíclica.....	13
Figura 4: Voltamograma cíclico para a teofilina $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ em eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pH 5,8 e $\nu = 100 \text{ mVs}^{-1}$	19
Figura 5: Mecanismo de oxidação para teofilina.....	19
Figura 6: Voltamogramas cíclicos para a teofilina $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ em eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pH 5,8 para uma aumento de 10 a 200 mVs^{-1} da velocidade de variação de potencial.....	20
Figura 7: Variação do E_{pa} com ν para uma solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ de teofilina em eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pH 5,8.	21
Figura 8: Variação da corrente de pico anódica com a raiz quadrada da variação da velocidade de varredura de potenciais ($\nu^{1/2}$) para a teofilina $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ em eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pH 5,8.....	22
Figura 9: Variação de $\log I_{pa}$ vs $\log \nu$ para a teofilina $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ em eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pH 5,8.....	23
Figura 10: Voltamogramas cíclicos para a teofilina $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ em eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ velocidade de varredura igual a 100 mVs^{-1} para diferentes pHs. Em (a) pH = 4,2; 5,0 e 5,8 e (b) pH = 6,6; 7,1; 8,0 e 9,0.	24
Figura 11: Gráfico de I_{pa} em função da variação do pH do eletrólito suporte de 4,2 a 9,0.....	25
Figura 12: Voltamogramas cíclicos para a teofilina em diferentes concentrações, eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pH 5,8 e $\nu = 75 \text{ mVs}^{-1}$	26
Figura 13: Variação da corrente de pico anódica em função da concentração de teofilina em eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pH 5,8 e $\nu = 75 \text{ mVs}^{-1}$	27
Figura 14: Variação da corrente de pico anódica em função da concentração de teofilina de $1,0 \times 10^{-4}$ a $4,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ em eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pH 5,8 e $\nu = 75 \text{ mVs}^{-1}$	28
Figura 15: Voltamogramas cíclicos obtidos para a determinação de teofilina em amostra de comprimido de Aminofilina. Amostra. Adições sucessivas de 2,7 mg de teofilina.	29
Figura 16: Dependência da I_{pa} em função da massa de teofilina adicionada de 2,7 a 16,2 mg.	30

Figura 17: Interpolação da corrente de pico anódica obtida para Aminofilina na curva de calibração de teofilina. Eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pH 5,8 e $\nu = 75 \text{ mVs}^{-1}$ 31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Estrutura química das N-metil derivadas da xantina	10
Tabela 2: Influência da ν sobre os parâmetros eletroquímicos do pico anódico obtidos para uma solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ de teofilina em eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pH 5,8.	21
Tabela 3: Estudo de recuperação de teofilina em produto farmacêutico	31
Tabela 4: Determinação de teofilina em comprimido de Aminofilina	32

RESUMO

O comportamento eletroquímico da teofilina foi estudado através da técnica de voltametria cíclica. Os parâmetros como a influência da velocidade de variação do potencial, do pH da solução aquosa e da concentração do analito foram avaliados. O processo foi confirmado como sendo irreversível obtendo-se um único pico de oxidação em 1056 mV. As melhores resoluções do pico de oxidação e respostas para corrente de pico foram obtidas utilizando a velocidade de variação do potencial de 75 mVs^{-1} e eletrólito suporte na concentração $0,1 \text{ molL}^{-1}$ e com pH 5,8. Assim, estes foram os parâmetros eletroquímicos utilizados para determinação de teofilina no produto farmacêutico Aminofilina. Obteve-se pela curva de calibração da teofilina, com linearidade entre $1,0 \times 10^{-4}$ a $4,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ um limite de detecção igual a $5,22 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ e um limite de quantificação de $8,74 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$. Validando-se o método para determinação de teofilina no fármaco, obteve-se um erro relativo de 1,4% com a utilização do método de adição consecutiva do padrão e de 13,3% para interpolação na curva de calibração da teofilina, confirmando assim, a sensibilidade do método, podendo este, ser utilizado para posteriores determinações de teofilina em diferentes composições farmacêuticas.

Palavras – chave: Teofilina, formulação farmacêutica, métodos eletroanalíticos.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Teofilina

A teofilina é um potente broncodilatador, amplamente utilizado no tratamento de doenças pulmonares obstrutivas, agudas e crônicas. Além do efeito broncodilatador, possui efeitos vasodilatadores, diuréticos, sob a contração diafragmática, e um efeito miocárdio inotrópico positivo.¹

De um modo geral, a teofilina afeta favoravelmente todos os fatores limitantes para os pacientes portadores de doenças pulmonares obstrutivas crônicas (DOPC), havendo redução na dispnéia, melhora na capacidade de execução de exercícios físicos, da força muscular e da mecânica respiratória. Tais benefícios são decorrentes da broncodilatação, da diminuição da quantidade de gás alçaponado, de ação direta e indireta (ação antiinflamatória e imunomoduladora) sobre a musculatura respiratória, melhora na hematose e, em pacientes coronarianos, melhora a perfusão miocárdia.^{2,3}

O nível sérico terapêutico de teofilina no organismo está entre 10 e 20 mg/mL. Apresenta uma meia-vida em torno de 8 horas em não-tabagistas e de 5 horas em tabagistas. A metabolização é extremamente individualizada, indicando a necessidade de monitorização adequada das concentrações séricas. São observadas grandes discrepâncias entre a dose administrada e as concentrações séricas em indivíduos submetidos a doses idênticas. Cerca de 90% da droga é metabolizada no fígado, e em torno de 60% encontram-se ligadas a proteínas. O estado de equilíbrio é alcançado em torno de 48 e 72 horas.¹

Conhecida também como 1,3-dimetil-xantina, a teofilina (figura 1) apresenta-se na forma de finas agulhas incolores ou um pó cristalino, branco, inodoro, de sabor amargo, inalterável ao ar e com solubilidade em 180 partes de água e em cerca de 80 partes de álcool. É levemente solúvel em clorofórmio e em éter, mas facilmente solúvel em hidróxidos alcalinos e em amônia diluída. Apresenta um ponto de fusão entre 269 e 274 °C e de ebulição entre 454 e 491 °C e sua densidade é de 1,465 gcm⁻³. Apresenta fórmula C₇H₈O₂N₄ e massa molar 180,17 gmoI⁻¹.⁴

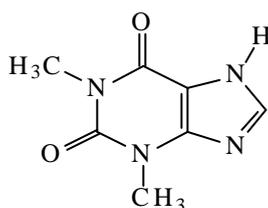


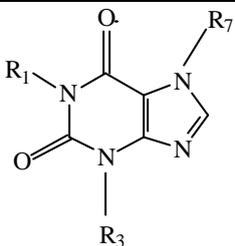
Figura 1: Estrutura química da teofilina

1.2. Xantinas

A teofilina é uma N-metil derivada das xantinas. Estas são bases nitrogenadas da mesma classe (alcalóides) em que se incluem a atropina, cocaína, efedrina, morfina, quinina, nicotina e várias outras; todas relacionadas a grande variedade de ações fisiológicas⁵.

O grupo das xantinas inclui vários compostos, onde nelas encontram-se ligados outros grupos. Entre eles, destacam-se a teofilina (1,3 dimetilxantina), a teobromina (3,7 dimetilxantina) e a cafeína (1,3,7 trimetilxantina), a tabela 1 mostra a estrutura de N-metil derivadas de xantinas.⁵

Tabela 1: Estrutura química das N-metil derivadas da xantina

Estrutura	R ₁	R ₃	R ₇	Composto
	H	H	H	Xantina
	CH ₃	CH ₃	H	Teofilina
	H	CH ₃	CH ₃	Teobromina
	CH ₃	CH ₃	CH ₃	Cafeína

As xantinas não-ligadas são encontradas na maior parte dos tecidos e líquidos do organismo dos mamíferos. Nas plantas, predominam as formas ligadas. As folhas de chá (*Thea sinensis*) são particularmente ricas em teofilina, as sementes de cacau contêm de 0,7 a 1,2% de teobromina. A cafeína corresponde de 1 a 2% do peso da semente de café e atinge 4 a 5% do peso da semente de guaraná e são encontradas em menores proporções, em inúmeras outras plantas, como por exemplo na erva mate⁵.

Os efeitos benéficos das xantinas em nosso organismo já foram estudados e ainda são objetivos de pesquisas. Elas atuam como diuréticos, relaxantes do músculo liso, estimulante cardíaco e vasodilatadores. A cafeína tem ação particularmente acentuada como estimulante do SNC (sistema nervoso central). São usadas para fins terapêuticos, tanto através de fontes naturais como de formulações feitas a partir de substâncias isoladas e purificadas. Já o consumo excessivo, porém, pode acarretar palpitações, convulsões, dores de cabeça e de estômago, insônia, perda de apetite, náusea, vômito, depressão, falta de potência, entre outros problemas.⁵

A solubilidade das xantinas é muito baixa, o que torna obrigatória, para o uso farmacológico, a formação de complexos com outras substâncias mais solúveis. O mais conhecido desses complexos ocorre entre a teofilina e a etilenodiamina, para que se forme a aminofilina (figura 2).³

1.3. Aminofilina e métodos de determinação

A aminofilina tem em comum com as demais xantinas uma série de propriedades farmacológicas interessantes, em particular a capacidade de relaxar a musculatura lisa (notavelmente a brônquica), estimular o sistema nervoso central e promover diurese.³

Esta se apresenta como um pó em grânulos brancos ou levemente amarelados, tendo um odor amoniacal leve e sabor amargo; perde gradualmente a etilenodiamina pela exposição ao ar, absorvendo dióxido de carbono com a liberação da teofilina livre. Dos seus 420,43 g mol⁻¹, 84,0 a 87,4% são correspondentes ao peso da teofilina e 13,5 a 15% ao da etilenodiamina.^{4, 6}

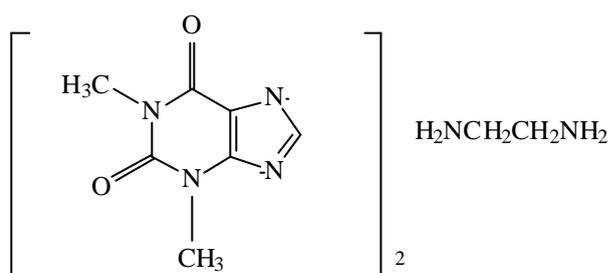


Figura 2: Estrutura química da aminofilina

Vários métodos utilizados para determinação de aminofilina e teofilina são encontrados na literatura, dentre os mais comuns estão a espectrofotometria⁷, a cromatografia⁸, a cromatografia líquida de alta eficiência^{9,10, 11}, a espectroscopia com absorção no UV^{12, 13}, a espectrometria de massa¹⁴, a eletroforese capilar^{15,16}, além de métodos eletroquímicos.²

1.4. Métodos eletroanalíticos

A eletroquímica tornou-se uma ferramenta muito poderosa com aplicação em diversos campos da química. Na química orgânica é importante na síntese de compostos que envolvem reações de transferência de elétrons em substituição ao consumo de reagentes, na química inorgânica auxilia na elucidação de mecanismos envolvendo íons metálicos, na físico-química contribui em estudos de reações de superfície, e por fim, na química analítica é utilizada na determinação de concentrações traços de vários metais, bem como na identificação e doseamento de compostos orgânicos e inorgânicos sujeitos a reações de oxi-redução.¹⁷

Dentre os métodos comuns em determinações eletroquímicas apresentam-se a *potenciometria*, a *cronopotenciometria*, a *cronoamperometria*, a *condutimetria*, a *coulometria*, a *polarografia* e a técnica utilizada neste estudo, a *voltametria*.¹⁸

As técnicas voltamétricas de análises estão sendo cada vez mais utilizadas em áreas de conhecimento tão distintas como na medicina, bioquímica, biologia molecular, química ambiental e físico-química, com o objetivo de se obter informações fundamentais sobre propriedades intrínsecas das substâncias. Estudos de processos de oxidação e redução em vários meios, de adsorção em superfícies e de mecanismos de transferência de elétrons, inclusive com a utilização de eletrodos modificados exemplificam algumas das numerosas aplicações atuais das chamadas técnicas eletroanalíticas.¹⁹

São técnicas que consistem em aplicar sobre o eletrodo de trabalho um potencial contínuo, que pode variar com o tempo, ocasionando reações de oxidação e redução nas espécies eletroativas presentes na solução. As informações qualitativas e quantitativas sobre as espécies químicas, que são obtidas a partir destas técnicas, são representadas em uma curva de corrente-potencial chamada de voltamograma. Voltametria é o nome geral desse processo, o termo polarografia geralmente é restrito a aplicações do eletrodo gotejante de mercúrio, a amperometria é semelhante à voltametria, com exceção do fato de que ambos os eletrodos devem ser polarizáveis.^{18,20}

A metodologia empregada no estudo apresentado neste trabalho é conhecida como voltametria cíclica. Esta técnica consiste em realizar a variação do potencial direto e inverso em vários ciclos sucessivos (figura 3), observando-se os picos catódicos e anódicos da espécie eletroativa. Se houver adsorção do analito no eletrodo, a intensidade dos picos catódicos e anódicos irá aumentar a cada varredura até que haja saturação na superfície do eletrodo. Este aumento irá ocorrer no mesmo potencial se o sistema for

reversível, isto é, se a quantidade de cargas envolvidas nas varreduras catódicas e anódicas forem idênticas.²⁰

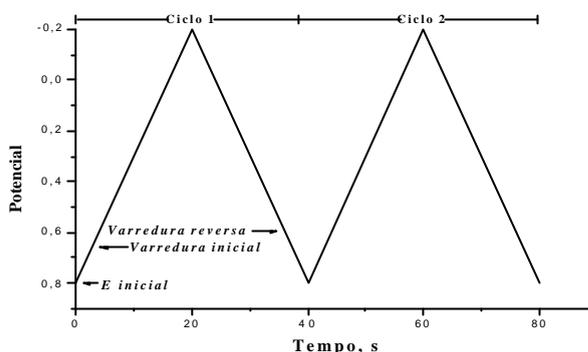


Figura 3: Programa de potencial empregado na voltametria cíclica

A corrente resultante na varredura de potencial depende do transporte de massa e da velocidade com que os elétrons são transferidos na interface eletrodo/solução; sendo este processo chamado de transferência de carga.¹⁷

A presença de grupos carbonílicos, de duplas ligações entre carbonos e entre carbono e nitrogênio na estrutura das xantinas, indicam que estas substâncias devem ser eletroativas, logo os métodos eletroanalíticos são muito utilizados para sua determinação, visando não apenas a busca de maior sensibilidade, mas também a eliminação de interferentes presentes nas matrizes dos fármacos, tempo de análise e baixo custo de equipamentos e materiais utilizados.²¹

Um estudo voltamétrico de oxidação da teofilina foi realizado por Zhu et al ², utilizando um eletrodo de carbono vítreo modificado como eletrodo de trabalho, um eletrodo de calomelano saturado como eletrodo de referência e um de platina como contra eletrodo. Como eletrólito suporte os autores utilizaram uma solução fosfato ($0,1 \text{ molL}^{-1}$, pH 5,8), velocidade de varredura igual a $0,1 \text{ Vs}^{-1}$, concentração de teofilina de $3,0 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ e obtiveram um processo irreversível. A influência da velocidade de varredura de potencial, do pH da solução tampão, da concentração de teofilina, a absorção no UV e a determinação de teofilina em composto farmacêutico também foram avaliados.

Baseado neste estudo, o trabalho que aqui segue apresenta também respostas obtidas com a utilização da técnica de voltametria cíclica. Fatores como velocidade de variação de potencial, pH da solução do eletrólito suporte e concentração do analito presente em solução foram analisados em relação ao melhor sinal de corrente de pico anódico obtido.

1.5. Validação de métodos analíticos

Para garantir que um método analítico gere informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra, ele deve sofrer uma avaliação chamada validação.²²

A validação de um método analítico é definido como sendo um processo através do qual estudos de laboratórios são realizados para garantir a confiabilidade do método proposto. Todos os órgãos regulamentadores exigem que um procedimento analítico seja validado, visando dessa forma assegurar que os resultados obtidos reflitam a operação dos procedimentos analíticos e que forneça informações confiáveis.²¹

Desta forma, a validação de um determinado procedimento analítico estabelecido pela maioria dos órgãos competentes segue uma série específica de parâmetros cuja determinação permita o julgamento da confiabilidade dos resultados obtidos, geralmente os parâmetros de validação analítica são: precisão, exatidão, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação e recuperação.²¹

Precisão: Representa a dispersão do grau de concordância entre duas ou mais medidas que tenham sido realizadas exatamente do mesmo modo. É expressa em termos do desvio padrão ou desvio padrão relativo. Em muitos casos é obtida a partir do desvio padrão de uma série de medidas sucessivas (repetibilidade).²¹

Exatidão: Representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro.²² É expressa em termos do erro relativo, calculado através dos dados de recuperação obtidos pelo método de adição de padrão.²¹

Linearidade: É a capacidade do método em fornecer resultados, diretamente proporcionais à concentração da substância em exame, dentro de uma determinada faixa de aplicação.²² É expressa em termos de variância em torno da inclinação da linha (calculada através da regressão linear padrão) dos resultados obtidos a partir da análise da curva de calibração.²¹

Limite de detecção: Representa a menor concentração da substância em exame que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, utilizando um determinado procedimento experimental.²²

$$LD = \frac{3S_b}{B} \quad (2)$$

Limite de quantificação: Representa a menor concentração da substância em exame que pode ser detectada de forma quantitativa com precisão e exatidão aceitáveis, utilizando um determinado procedimento experimental.²¹

$$LQ = \frac{10S_b}{B} \quad (3)$$

Onde S_b é o desvio padrão da média aritmética da corrente do branco, medida no potencial equivalente ao pico da espécie em estudo e B é a inclinação da curva de calibração.

Recuperação: É realizada enriquecendo-se a amostra com quantidades conhecidas do padrão utilizado. A amostra mais o padrão passam pelo mesmo procedimento de análise da amostra sozinha, os resultados obtidos para a concentração do analito na amostra enriquecida é subtraído do resultado obtido para a amostra sozinha. A diferença deve dar o valor da concentração do padrão adicionado na amostra dentro do erro experimental aceito, sendo que o resultado ideal para uma boa recuperação é obtido com valores próximos de 100%.²¹

2. OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo estudar o comportamento eletroquímico da teofilina através da técnica de voltametria cíclica, que é uma técnica simples, rápida e de baixo custo. Vários parâmetros serão avaliados, entre eles a influência da velocidade de variação do potencial (v), o pH da solução aquosa, a linearidade e a determinação dessa substância em uma formulação farmacêutica.

Após a validação da metodologia proposta pretende-se mostrar que a análise voltamétrica da teofilina é um método sensível e que pode se tornar uma alternativa para posteriores aplicações e análises de outros fármacos que apresentam teofilina em sua composição.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Reagentes

Todos os reagentes utilizados neste estudo eram de grau analítico adquiridos da Sigma (Teofilina), da Grupo Química (H_3PO_4) e da Reagen (KH_2PO_4 , K_2HPO_4 e KOH). O fabricante da Aminofilina utilizada é o laboratório Neo Química. Todos os reagentes foram utilizados sem purificação prévia. Para preparação das soluções, utilizou-se água destilada e desionizada.

3.2. Métodos eletroquímicos

Para obtenção dos voltamogramas foi utilizado um potenciostato/galvanostato EG & G PARCTM, modelo 263 A, em conjunto com o software M270 acoplado a um computador comercial. Os gráficos foram editados com o auxílio do software ORIGINTM da empresa Microcal. Já para a montagem das estruturas químicas utilizou-se o programa de computador CHEMWINDOWTM da empresa Softshell.

3.2.1. Voltametria cíclica

A célula eletroquímica utilizada foi uma célula de vidro do sistema PARC, com capacidade máxima de 20 mL. Composta por um eletrodo de referência Ag/AgCl saturado com KCl, que não sofre polarização; um contra eletrodo de fio de platina, responsável pela reação complementar e como eletrodo de trabalho foi utilizado um eletrodo de carbono vítreo, sendo todos eles também da PARC.

Antes de se obter os voltamogramas cíclicos, o eletrodo de trabalho foi polido cuidadosamente com pasta da alumina (0,05 μm) e lavado com água desionizada. Este procedimento foi repetido a cada nova varredura realizada.

Após a adição da amostra à célula eletroquímica, foi inicializado o processo de purga da solução, onde gás nitrogênio foi borbulhado para dissolução e homogeneização da amostra, assim como para a remoção do oxigênio dissolvido, que constitui em um interferente nos estudos voltamétricos.

O eletrólito de suporte utilizado foi uma solução de mono e dihidrogeno fosfato de potássio (KH_2PO_4/K_2HPO_4 , com concentração de 0,05 $molL^{-1}$ de cada componente). O pH desta fase foi ajustado com H_3PO_4 , quando desejava-se tornar a solução mais ácida e com KOH para tornar a solução mais básica.

A teofilina foi adicionada à célula após a obtenção do voltamograma correspondente ao eletrólito suporte. Tanto para o estudo da influência da velocidade de variação do potencial quanto do pH da solução, a concentração utilizada de teofilina foi de $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$. Já para construção da curva de calibração, uma solução estoque com concentração $2,0 \times 10^{-2} \text{ molL}^{-1}$ de teofilina foi preparada e diluída para as concentrações desejadas.

A faixa de potencial utilizada nos estudos variou entre 500 e 1300 mV.

3.2.2. Estudo da adição de padrão e determinação de teofilina

Segundo a fabricante Neo Química, um comprimido com 100 mg de Aminofilina apresenta 81% de sua massa correspondente ao peso da teofilina e 14% de etilenodiamina.

Um comprimido foi previamente pesado e macerado. O fino pó resultante foi diluído em 250 mL da solução do eletrólito suporte com pH já ajustado. Após a mistura ser passada pelo ultra-som, uma alíquota de 15 mL foi transferida à célula eletroquímica e desoxigenada. Sob as melhores condições estabelecidas anteriormente pelo estudo efetuado com a teofilina, iniciou-se a primeira varredura.

A seguir sucessivas adições, em massa, de teofilina foram efetuadas à célula, para obtenção da concentração desejada. A cada adição, a célula era levada ao ultra-som e posteriormente registravam-se os voltamogramas. Extrapolando-se a curva obtida de I_{pa} em função da massa de teofilina adicionada, a quantificação foi obtida.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Comportamento eletroquímico da teofilina

4.1.1. Perfil Voltamétrico

A figura 4 mostra o comportamento ciclo voltamétrico obtido para a teofilina, com concentração igual a $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$, em eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ e pH 5,8, na velocidade de variação de potencial de 100 mVs^{-1} e varredura de potencial na direção positiva de +500 a +1300 mV; com a utilização de um eletrodo de carbono vítreo como eletrodo de trabalho.

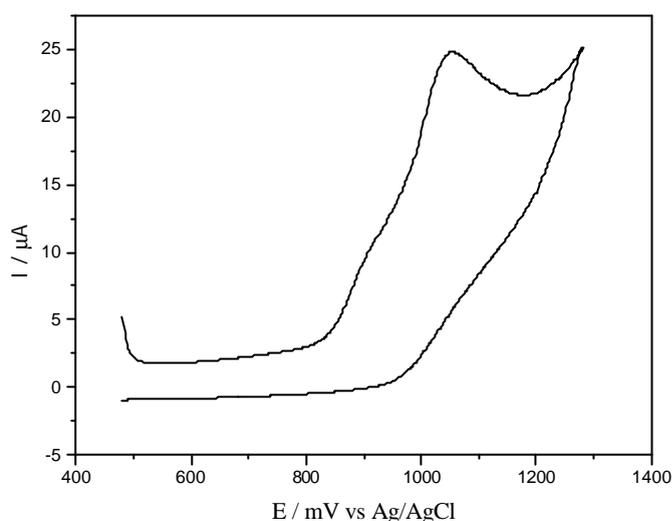


Figura 4: Voltamograma cíclico para a teofilina $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ em eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pH 5,8 e $\nu = 100 \text{ mVs}^{-1}$.

O voltamograma acima apresenta um único pico de oxidação em 1056 mV, o que caracteriza o processo como sendo irreversível.

Segundo Zhu et al², este processo envolve dois elétrons e dois prótons, e o provável mecanismo para esta reação de oxidação por ele proposto é:

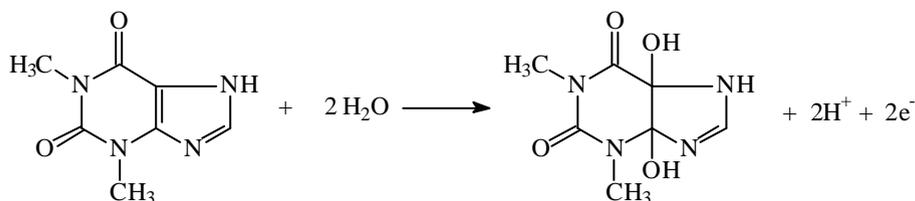


Figura 5: Mecanismo de oxidação para teofilina

4.1.2. Influência da velocidade de variação de potencial (V)

A figura 6 mostra os voltamogramas obtidos para a influência da velocidade de variação de potencial de 10 a 200 mVs^{-1} sobre uma solução de teofilina com concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ em eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ e pH 5,8.

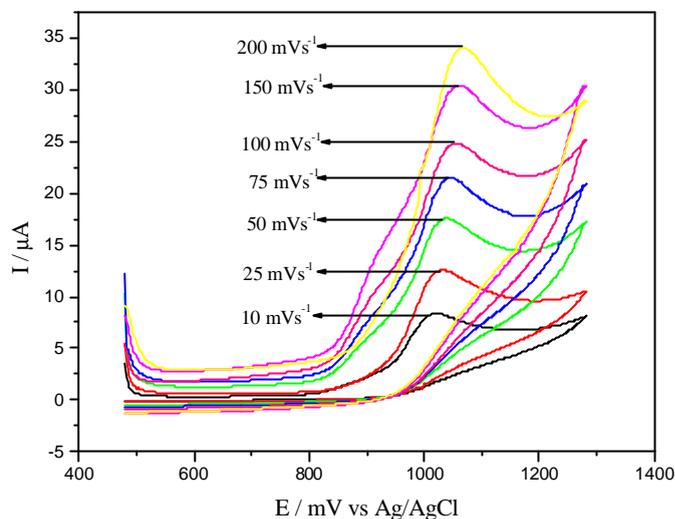


Figura 6: Voltamogramas cíclicos para a teofilina $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ em eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pH 5,8 para uma aumento de 10 a 200 mVs^{-1} da velocidade de variação de potencial.

Observando-se os voltamogramas, percebe-se um aumento na corrente de pico anódica na medida em que se aumenta a velocidade de varredura, isso se dá pois, segundo a equação de Randles-Sevcik a corrente de pico é diretamente proporcional a raiz quadrada da velocidade de variação do potencial.

Os potenciais deslocam-se para valores mais positivos na medida em que aumenta-se a velocidade de varredura, pois como apresentado na tabela 2 e mostrado na figura 6, são variações características de processos irreversíveis.

Para continuidade dos estudos voltamétricos, optou-se por trabalhar com a velocidade intermediária de 75 mVs^{-1} , esta mostra-se adequada, por apresentar uma boa intensidade para a corrente de pico. Esta velocidade não deve ser muito baixa pois a reação de oxidação vai ocorrer muito lentamente, também não devendo ser muito alta, pois corre-se o risco de não haver completa oxidação do analito em solução.

Outra maneira para concluir se o processo é reversível ou irreversível seria avaliando-se o comportamento dos parâmetros eletroquímicos em relação a velocidade de varredura.

Tabela 2: Influência da ν sobre os parâmetros eletroquímicos do pico anódico obtidos para uma solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ de teofilina em eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pH 5,8.

ν (mVs^{-1})	I_{pa} (μA)	E_{pa} (mV vs Ag/AgCl)
10	8,22	1017
25	12,36	1029
50	17,39	1038
75	21,36	1046
100	24,62	1054
150	30,24	1059
200	33,94	1068

A figura 7 mostra a curva obtida entre os potenciais de pico anódico em função da variação da velocidade de varredura dos mesmos.

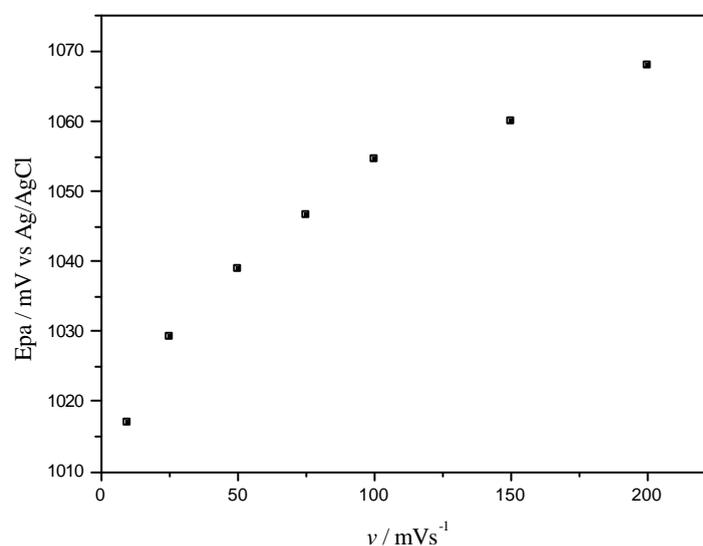


Figura 7: Variação do E_{pa} com ν para uma solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ de teofilina em eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pH 5,8.

Volta-se a confirmar que o processo de oxidação da teofilina é irreversível, pois segundo a teoria, para processos reversíveis, o potencial de pico anódico deveria manter-se constante com a variação da velocidade de varredura de potencial. Como pode ser comprovado através da análise dos dados apresentados na tabela 2 e das figuras 6 e 7, o potencial desloca-se para valores mais positivos, confirmando assim a natureza do processo eletroquímico.²¹

Já a concentração da espécie oxidada não depende somente da reação ocorrida na superfície do eletrodo, mas também da etapa determinante da velocidade desta reação das espécies em solução. Esta etapa pode ser difusional ou por adsorção.²³

Uma das maneiras de confirmar o tipo de etapa esta envolvida no processo, seria avaliar o comportamento da corrente de pico em relação a velocidade de varredura.

A figura 8 mostra a variação da corrente de pico anódica em função de $v^{1/2}$.

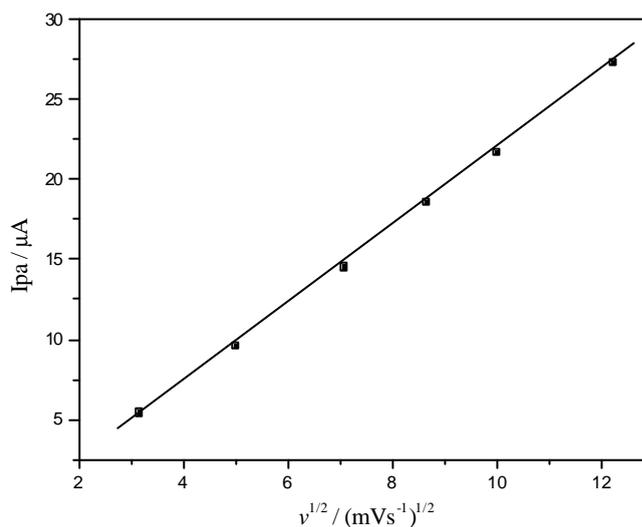


Figura 8: Variação da corrente de pico anódica com a raiz quadrada da variação da velocidade de varredura de potenciais ($v^{1/2}$) para a teofilina $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ em eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pH 5,8.

A curva mostra-se linear em toda sua extensão ($r = 0,999$). Segundo a equação de Randles-Sevcik:²⁴

$$I_p = (2,69 \times 10^5) n^{3/2} A D^{1/2} C v^{1/2} \quad (1)$$

a corrente de pico é proporcional a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial, logo o controle da velocidade de reação é dito como difusional.²

Outra maneira para confirmar se o processo é realmente difusional trata-se em observar a curva obtida entre $\log I_{pa}$ vs $\log v$. Se a inclinação da reta for próxima a 1 o processo é controlado por adsorção. Já se este valor for próximo a 0,5 ele é controlado por difusão.²¹

A figura 9 mostra a variação de $\log I_{pa}$ em função de $\log v$ para a teofilina $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$.

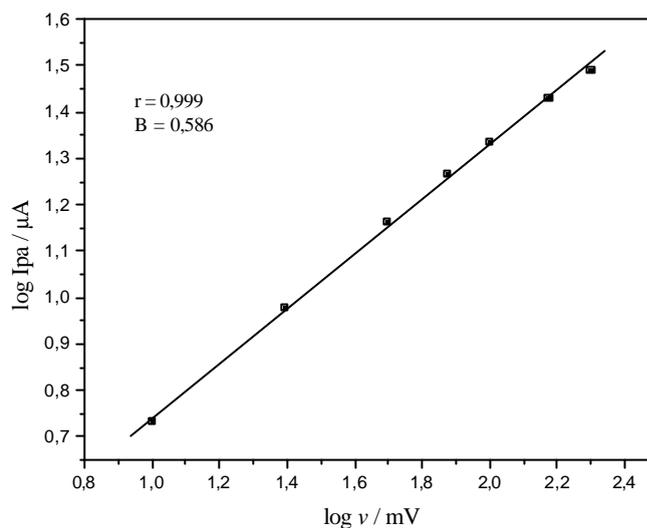


Figura 9: Variação de $\log I_{pa}$ vs $\log v$ para a teofilina $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ em eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pH 5,8.

O coeficiente de correlação obtido para a curva acima foi de 0,999 e o coeficiente angular da reta igual a 0,586, confirmando então, que o processo que ocorre na interface do eletrodo de carbono vítreo com a solução é realmente controlado por difusão.

4.1.3. Influência do pH

A influência do pH sobre a corrente de pico para a oxidação da teofilina foi avaliada variando-se o pH do eletrólito suporte de 4,2 a 9,0.

A figura 10 mostra os voltamogramas cíclicos obtidos para teofilina na concentração $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$, velocidade de 100 mVs^{-1} em diferentes pHs.

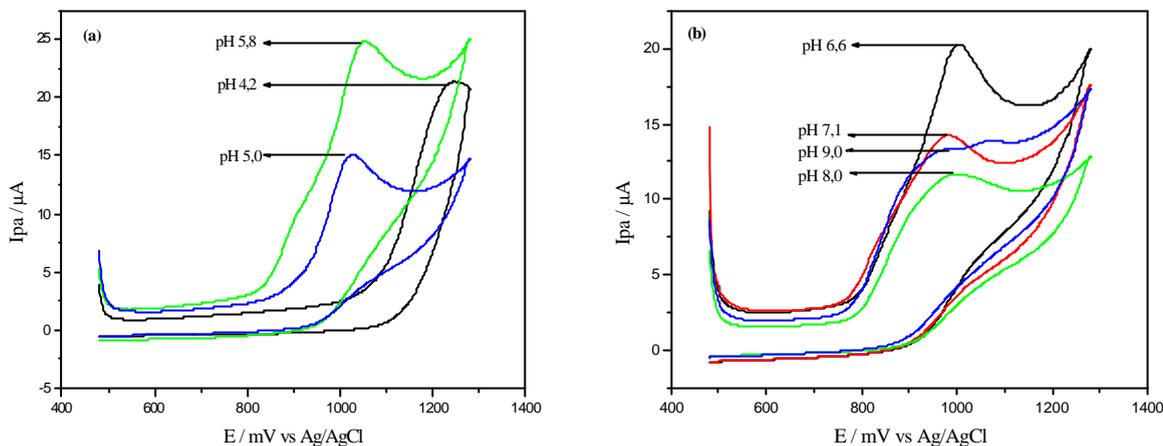


Figura 10: Voltamogramas cíclicos para a teofilina $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ em eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ velocidade de varredura igual a 100 mVs^{-1} para diferentes pHs. Em (a) pH = 4,2; 5,0 e 5,8 e (b) pH = 6,6; 7,1; 8,0 e 9,0.

Analisando-se os voltamogramas percebe-se que a corrente de pico anódica aumenta consideravelmente com o aumento do pH entre os valores de 5,0 e 5,8. A partir destes valores a corrente de pico anódica decresce, chegando-se a não obter resposta em pHs maiores que 10,0.

A figura 11 mostra o gráfico plotado de I_{pa} em função da variação do pH do eletrólito suporte, através dos dados obtidos dos voltamogramas mostrados anteriormente.

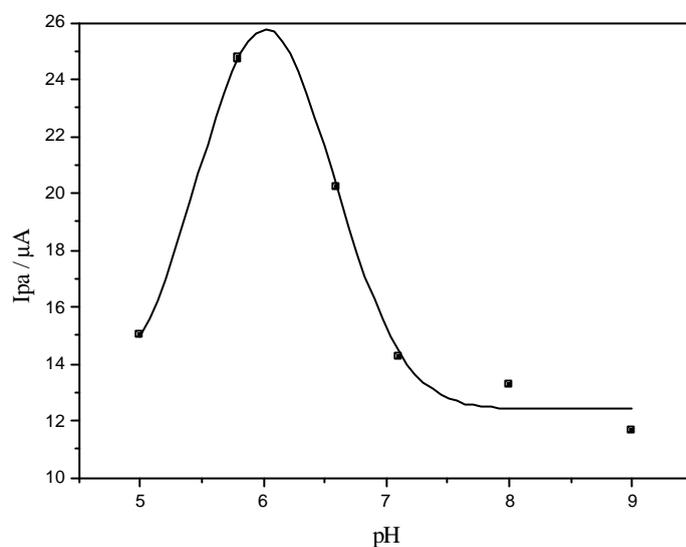


Figura 11: Gráfico de I_{pa} em função da variação do pH do eletrólito suporte de 4,2 a 9,0.

Para continuidade dos estudos voltamétricos, optou-se por trabalhar com pH 5,8 para o eletrólito suporte, pois neste foi encontrada a melhor resolução para o pico anódico, obtendo-se assim o melhor sinal analítico e a intensidade de corrente mais elevada.

4.1.4. Influência da concentração

A influência da concentração no perfil ciclovoltamétrico foi avaliada variando-se a concentração de teofilina.

A figura 12 mostra os voltamogramas obtidos para variação da concentração de teofilina de $1,0 \times 10^{-4}$ a $7,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$, em eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pH 5,8 e velocidade de varredura de 75 mVs^{-1} .

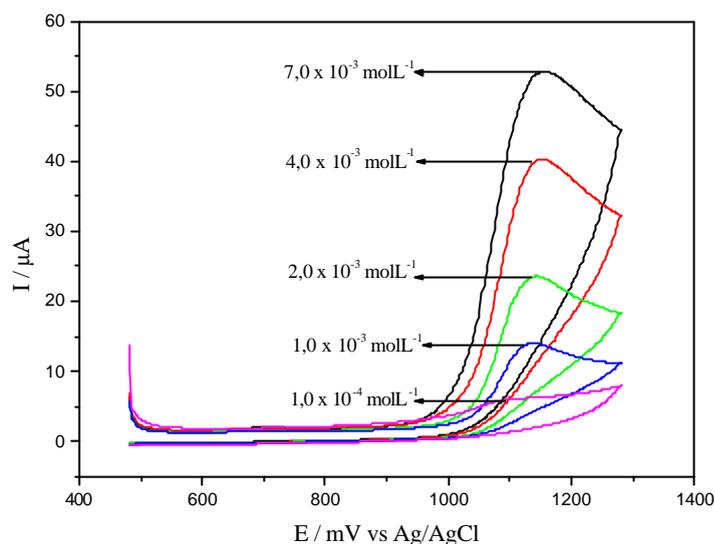


Figura 12: Voltamogramas cíclicos para a teofilina em diferentes concentrações, eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pH 5,8 e $\nu = 75 \text{ mVs}^{-1}$.

Observa-se um aumento sucessivo na corrente de pico anódica com o aumento da concentração de teofilina, este comportamento é confirmado pela equação de Randles-Sevcik, pois a corrente de pico é diretamente proporcional ao aumento da concentração do analito.

Os potenciais de pico anódico deslocam-se gradativamente para potenciais mais positivos a cada adição.

4.1.5. Curva de calibração

Utilizando-se as melhores condições voltamétricas de trabalho, previamente definidas, entre elas a velocidade de variação do potencial de 75 mVs^{-1} , o eletrólito suporte com concentração $0,1 \text{ molL}^{-1}$ e pH 5,8 foi construída uma curva de calibração para a teofilina a partir dos voltamogramas cíclicos da figura 12.

A figura 13 mostra a curva, obtida na faixa de concentração $1,0 \times 10^{-4}$ a $7,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ de teofilina.

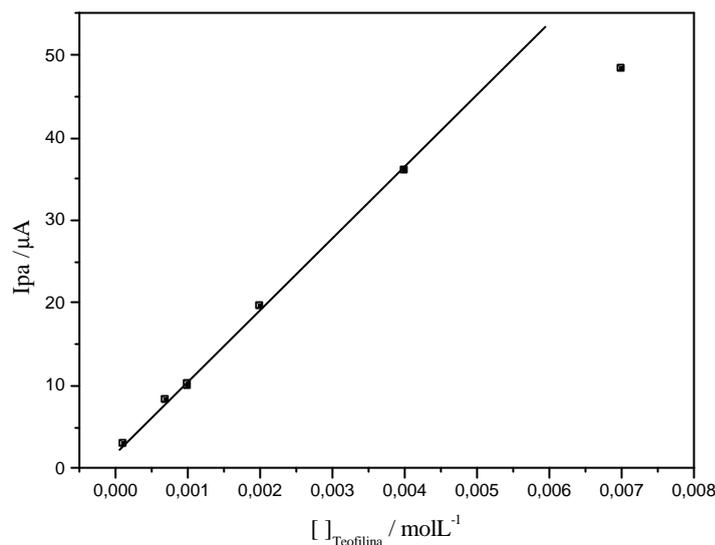


Figura 13: Variação da corrente de pico anódica em função da concentração de teofilina em eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pH 5,8 e $\nu = 75 \text{ mVs}^{-1}$.

Como a concentração de $7,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ de teofilina não mais segue o perfil de linearidade da curva de calibração, optou-se por omiti-lo, pois a partir desta concentração não é mais possível a determinação deste fármaco.

A figura 14 mostra então a curva de calibração obtida para a faixa de $1,0 \times 10^{-4}$ a $4,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ de teofilina.

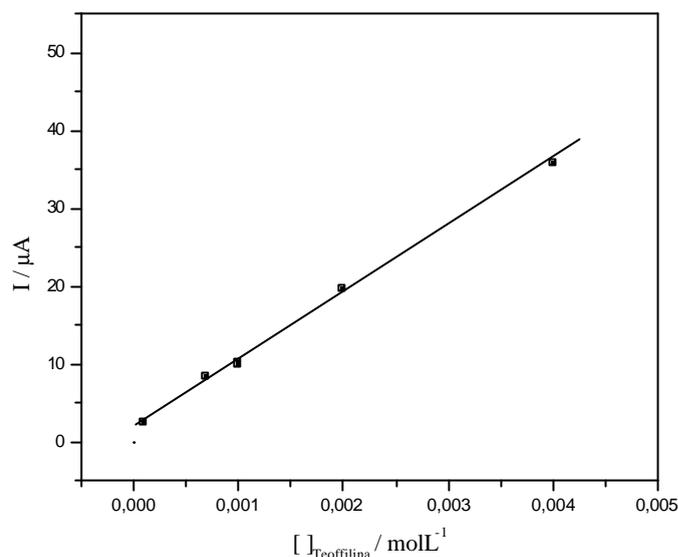


Figura 14: Variação da corrente de pico anódica em função da concentração de teofilina de $1,0 \times 10^{-4}$ a $4,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ em eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pH 5,8 e $\nu = 75 \text{ mVs}^{-1}$.

Assim a faixa de linearidade da curva deu-se no intervalo entre $1,0 \times 10^{-4}$ e $4,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ de teofilina. A equação correspondente a reta apresentada na figura 14 é: $y = 1,93x + 8,56 \times 10^{-3}$ e o coeficiente de correlação obtido foi de +0,999.

Essa faixa de linearidade, também chamada de faixa dinâmica nada mais é que, um método analítico que se estende da menor concentração nas quais as medidas quantitativas são realizadas, até a concentração as quais se afastam da linearidade.²⁵

A partir desta curva foi adquirido um limite de detecção igual a $5,22 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ e um de quantificação de $8,74 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ obtidos através das equações (2) e (3) respectivamente.

Partindo-se da validação proposta, iniciou-se o processo para determinação de teofilina no produto farmacêutico.

4.1.6. Determinação de teofilina em produto farmacêutico

A partir da utilização da voltametria cíclica foi possível a determinação da teofilina em uma formulação farmacêutica, a Aminofilina (100 mg); onde, segundo o fabricante, 81% de sua composição é correspondente a teofilina e 14% de etilenodiamina.

Um comprimido de Aminofilina foi finamente macerado e dissolvido em 250 mL do eletrólito suporte $0,1 \text{ molL}^{-1}$ pH 5,8. Uma alíquota de 15 mL desta solução foi adicionada à célula eletroquímica, e utilizando-se as condições voltamétricas previamente definidas, foi realizada sua determinação.

A partir do método da adição de padrão, que consiste na adição de quantidades conhecidas da substância de interesse na amostra analisada; sucessivas varreduras foram efetuadas.

A figura 15 mostra os voltamogramas cíclicos obtidos.

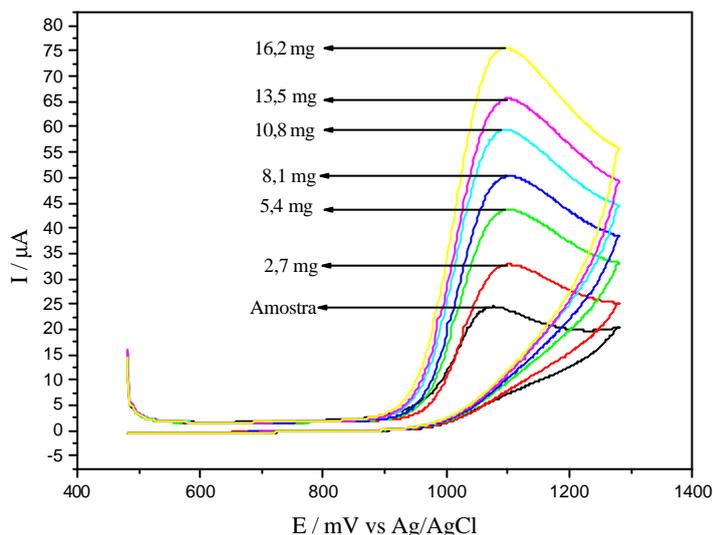


Figura 15: Voltamogramas cíclicos obtidos para a determinação de teofilina em amostra de comprimido de Aminofilina. Amostra. Adições sucessivas de 2,7 mg de teofilina.

Observando-se os voltamogramas acima, pode-se perceber que a partir da primeira adição de teofilina feita à célula, a corrente de pico anódica aumenta gradativamente e o potencial mantém-se constante em 1097 mV.

Assim, a figura 16 mostra as adições sucessivas de teofilina padrão na amostra do comprimido de Aminofilina.

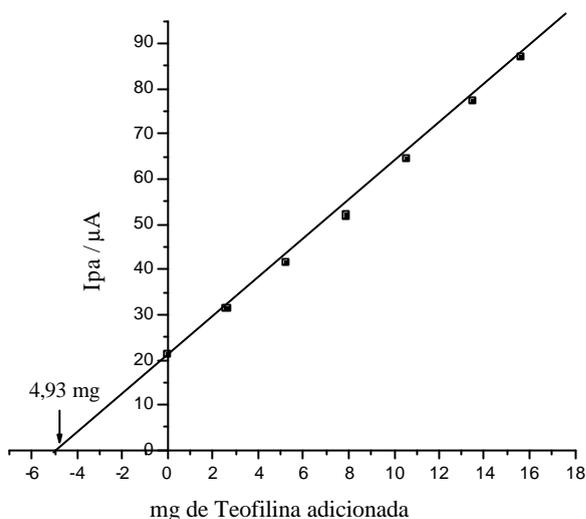


Figura 16: Dependência da Ipa em função da massa de teofilina adicionada de 2,7 a 16,2 mg.

A partir dos dados obtidos na curva analítica foi possível fazer a determinação da teofilina no comprimido de Aminofilina.

O ponto onde a reta corta o eixo das ordenadas corresponde a corrente de pico da substância, sem qualquer adição do padrão. A extrapolação da reta define, no eixo das abcissas, a concentração da substância na amostra analisada.²²

Na figura 16 a curva cortou o eixo das abcissas no ponto 4,93 mg, este valor corresponde a determinação de 82,17 mg de teofilina no comprimido de Aminofilina.

Para o estudo de recuperação, foram efetuadas sucessivas adições de 2,7 mg do padrão teofilina a célula eletroquímica.

A tabela 3 mostra os valores obtidos para recuperação da massa de teofilina feitas a célula.

Tabela 3: Estudo de recuperação de teofilina em produto farmacêutico

Teofilina			
Amostra	Adicionado (mg)	Encontrado(mg)	Recuperação (%)
Aminofilina	2,7	2,6	96,3
	5,4	5,3	98,2
	8,1	7,9	97,5
	10,8	10,6	98,2
	13,5	13,6	100,7
	16,2	15,7	96,9

A partir do valor de I_{pa} encontrada na varredura cíclica da amostra, tem-se outra maneira de determinar da massa de teofilina presente no comprimido de Aminofilina.

A figura 17 mostra o valor desta corrente de pico anódica obtida para Aminofilina, em uma interpolação na curva de calibração resultante das varreduras realizadas para teofilina.

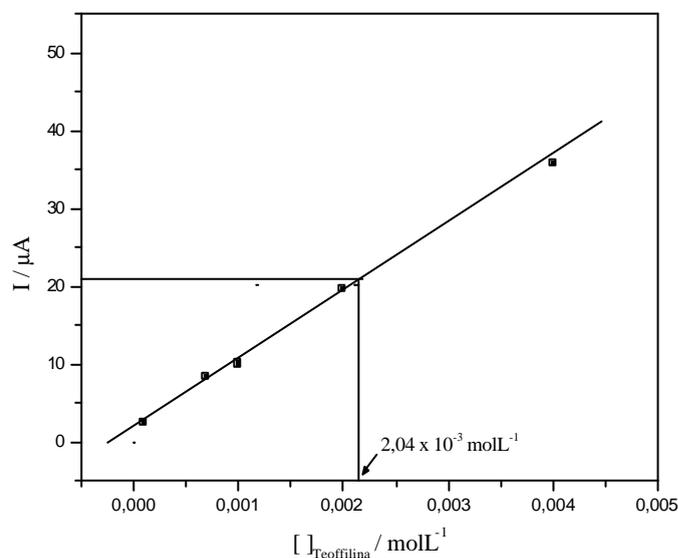


Figura 17: Interpolação da corrente de pico anódica obtida para Aminofilina na curva de calibração de teofilina. Eletrólito suporte $0,1 molL^{-1}$ pH 5,8 e $v = 75 mVs^{-1}$.

Foi encontrada uma concentração de $2,04 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$, correspondente a uma massa de 91,79 mg de teofilina presente no comprimido.

A diferença entre os valores encontrados para a massa de teofilina no comprimido de Aminofilina nas duas metodologias apresentadas, podem ser justificadas pelo uso das diferentes curvas, já que na primeira metodologia empregou-se o método de adição consecutiva do padrão, onde a curva utilizada foi a analítica, sendo esta construída com a amostra de Aminofilina, assim os excipientes que poderiam causar o efeito de matriz estavam presentes na amostra durante a realização dos ensaios eletroquímicos. Já a curva de calibração, utilizada na segunda determinação, foi construída apenas com concentrações de pureza do analito, onde nenhum interferente poderia causar o efeito de matriz.

A tabela 4 mostra os valores obtidos para determinação de teofilina nas diferentes metodologias utilizadas.

Tabela 4: Determinação de teofilina em comprimido de Aminofilina

Amostra	Teofilina (mg)		Erro relativo (%)
	Valor rotulado	Valor Encontrado	
Aminofilina	81,00	82,17*	1,4
	81,00	91,76**	13,3

* Adição consecutiva do padrão

** Interpolação na curva de calibração

A avaliação dos parâmetros analíticos obtidos a partir das curvas, analítica e de calibração, e das tabelas apresentadas, juntamente com os valores obtidos para o limite de detecção e de quantificação confirmam a sensibilidade do método proposto.

5. CONCLUSÃO

Utilizando-se a técnica de voltametria cíclica para o estudo eletroquímico da teofilina, confirmou-se que o processo é irreversível, apresentando um único pico de oxidação em 1056 mV, sendo este processo controlado por difusão. A corrente de pico anódica aumentou linearmente como aumento da raiz quadrada da velocidade de variação do potencial de 10 para 200 mVs^{-1} e da concentração de teofilina $1,0 \times 10^{-4}$ a $4,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$, obtendo-se um limite de detecção de $5,22 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ e um de quantificação de $8,74 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$.

Para determinação de teofilina na Aminofilina obteve-se um erro relativo de 1,4% com a utilização do método de adição consecutiva do padrão e de 13,3% para interpolação na curva de calibração da teofilina, para determinação de teofilina no composto farmacêutico.

Através das considerações apresentadas para validação da metodologia proposta, conclui-se que o método utilizado é uma boa alternativa para determinação de teofilina em amostras farmacológicas, devido sua boa sensibilidade, baixo custo e a facilidade na utilização da voltametria cíclica.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. <http://www.diagnosticosdaamerica.com.br/exames/teofilina.shtml>, acesso em 25/05/2006.
2. Zhu, Y.; Zhang, Z.; Pang, D.; *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 2005, 303-309, 581.
3. Bueno, A. S. B.; *Einstein*. 2003, 1:141.
4. Cunha, F. A.; Oliveira, E.; Suassuna, I.; Silva, J. A. P. S.; Sollero, L.; Nobrega, M. A. F.; Costa, P. D.; Cruz, D. A. G.; *Farmacopéia Brasileira*. 3. ed. Brasil: Organização Andrei Editora S.A., 1976. 111 e 756 p.
5. Maia, A. B.; *Ciência Hoje*. 2001, novembro. 7 p.
6. Mazurek, S.; Szostak, R.; *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2006, 1235-1242, 40.
7. Sing, D.; K.; Sahu, A.; *Analytical Biochemistry*. 2006, 176-180, 349.
8. Chen, Q.; Wang, J.; *Journal of Chromatography*. 2001, 57-64, 937.
9. Brunetto, M. R.; Gutiérrez, L.; Delgado, Y.; Gallignani, M.; Zambrano, A.; Gómez, A.; Ramos, G.; Romero, C.; *Food Chemistry*. 2005.
10. Rasmussen, B. B.; Nielsen, K. K.; Brosen, K.; *Analytical Biochemistry*. 1994, 9-13, 222.
11. Yin, C.; Tang, C.; Wu, X.; *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2003, 39-43, 33.
12. Culzoni, M. J.; Zan, M. M.; Robles, J. C.; Mantovani, V. E.; Goicoechea, H. C.; *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2005, 1068-1074, 39.
13. Aresta, A.; Palmisano, F.; Zambonin, C. G.; *Food Chemistry*. 2005, 177-181, 93.
14. Kanazawa, H.; Atsumi, R.; Matshusima, Y.; Kizu, J.; *Journal of Chromatography*. 2000, 87-96, 870.
15. Zhang, Q.; Lian, H.; Wang, W.; Chen, H.; *Journal of Chromatography A*, 2005, 172-176, 1098.
16. Haque, A.; Xu, X.; Stewart, J. T.; *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 1999, 1063-1067, 21.
17. Galato, D.; *Estudo Eletroquímico da Oxidação da Glicose, Eletrossíntese e Análise de Gliconato de Zinco*. Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina. 1998.

18. Ewing, G. W.; *Métodos Instrumentais de Análise Química*. Vol 1. Brasil: Editora Edgar Blucher LTDA., 1972. 207-208 p.
19. Souza, D.; Machado, S. A. S.; Avaca, L. A.; *Química Nova*. 2003, 81-89, vol 26, Nº 1.
20. Cantane, D. A.; *Tipos de Voltametria*. Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo. 2004.
21. Trindade, M. A. G.; *Estudo do Comportamento Eletroquímico e Determinação da Moxifloxacina Através de Técnicas Voltamétricas*. Departamento de Química, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. 2005.
22. Ribani, M.; Bottoli, C. B. G.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F.; Melo, L. F. C. M.; *Química Nova*. 2004, 771-780, vol 27, Nº5.
23. Brett, C. M. A.; Brett, A. M. O.; *Electrochemistry. Principles, Methods and Applications*. Oxford, Great Britain. 1993. 84 p.
24. Kissinger, P. T.; Heineman, W. R.; *Journal of Chemical Education*. 1983, 702-706, vol 60, Nº9.
25. Skoog, D. A.; Holler, J. F.; Niemann, T. A.; *Princípios de Análise Instrumental*. 5^a ed., Bookman, 2002.