

Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Físicas e Matemáticas
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química
Grupo de Estudos de Processos Eletroquímicos e Eletroanalíticos

Comportamento eletroquímico e determinação
eletroanalítica da sulfadiazina

Otoniel Carvalho de Braga

Florianópolis – SC

2009

Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Físicas e Matemáticas
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química
Grupo de Estudos de Processos Eletroquímicos e Eletroanalíticos

Comportamento eletroquímico e determinação eletroanalítica da sulfadiazina

Otoniel Carvalho de Braga

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal de Santa Catarina como um
dos requisitos para a obtenção do Título de
Mestre em Química na área de Química Analítica

Orientador: Prof. Dr. Almir Spinelli

Florianópolis – SC

Otoniel Carvalho de Braga

Comportamento eletroquímico e determinação eletroanalítica da
sulfadiazina

Esta dissertação foi julgada e aprovada para a obtenção do título de Mestre em Química no
Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 25 de agosto de 2009.

Prof. Ademir Neves
Coordenador

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Almir Spinelli
Orientador

Prof^ª. Dra. Vilma Edite Fonseca
Heinzen

Prof^ª. Dra. Vera Lucia Azzolim
Frescura Bascunân

Prof. Dr. José Roberto Bertolino

“tudo posso Naquele que me fortalece”

Filipenses 4:13

Aí Jainara, valeu pela amizade, carinho, amor e compreensão em todos os momentos.

Este trabalho foi desenvolvido no Grupo de Estudos de Processos Eletroquímicos e Eletroanalíticos (GEPEEA) laboratório 310 do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, sob a orientação do Prof. Dr. Almir Spinelli.

AGRADECIMENTOS

A Deus, Ser Supremo, Único e Criador de todas as coisas, Onipresente, Onipotente e Onisciente a Quem serei eternamente grato pela dádiva da vida.

Aos meus pais Alvaro Jorge Braga e Mirian Carvalho de Braga, pessoas íntegras e de imenso caráter com quem aprendi a amar e respeitar.

Meu raio de sol, mais bela flor, Jainara Pacheco de Braga, obrigado por existir.

Meus irmãos Priscila Carvalho de Braga e Onesimo Carvalho de Braga, peças de extrema importância e participação ativa em todo meu processo de aprendizado.

Ao Prof. Dr. Almir Spinelli pelo tempo concedido à minha pessoa, orientando em minha formação acadêmica e pessoal com sabedoria, amizade e extrema paciência.

Aos atuais membros do GEPEEA Almir, Dilson, Eder, Fernando, Gabriel, Giovana, Iolana, Keliana e Marcelo por todos os momentos compartilhados e presenciados em convívio diário, dentro e fora de um ambiente de laboratório de pesquisa.

Aos antigos participantes do GEPEEA com quem tive a oportunidade de manter vivência Ana Karina, Cristine, Édina, Fernanda, Francielle, Ivanise, Leone, Lidiane, Marcia Michele, Rodolfo e Silvia Abarca, pessoas de extrema importância durante minha formação.

Aos amigos que também sofreram, ganharam e perderam mas como eu, também escreveram mais algumas páginas no livro da vida.

Aos Mestres que atuando de forma ativa, contribuíram com mansidão e sabedoria em minha formação acadêmica e crescimento pessoal.

Ao setor de manutenção e conservação, aqui lembrado no sambista e contador de história Marcelo um muito obrigado pelas gentilezas e serviços prestados ao GEPEEA.

Ao seu Agenor pela presteza e atenção com que sempre tratou os participantes do GEPEEA fornecendo ao grupo ferramentas que facilitaram o desenvolvimento da pesquisa.

Professor e Cheff Adão pelos ensinamentos e bons momentos de conversa regados a boa música, bom trago e riquíssima mesa.

A CAPES (Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de mestrado concedida e assim possibilitando minha capacitação.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
LISTA DE TABELAS.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Sulfonamidas.....	1
1.1.1 Desenvolvimento.....	1
1.1.2 Mecanismo de ação.....	1
1.1.3 Estrutura química.....	2
1.1.4 Propriedades físico-químicas.....	2
1.1.5 Aspectos farmacocinéticos.....	2
1.1.6 Reações adversas.....	4
1.1.7 Aspectos clínicos e de saúde pública.....	4
1.2 Métodos de análise das sulfonamidas.....	4
1.2.1 Métodos de separação.....	4
1.2.2 Métodos eletroanalíticos.....	6
2. OBJETIVOS.....	10
2.1 Objetivo geral.....	10
2.2 Objetivos específicos.....	10
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	11
3.1 Reagentes e soluções.....	11
3.2 Equipamentos.....	11
3.3 Desaeração do sistema.....	12
3.4 Limpeza do eletrodo.....	12
3.5 Estudos voltamétricos.....	12
3.6 Procedimento para a determinação da sulfadiazina em formulações farmacêuticas.....	13
3.7 Determinação amperométrica.....	13
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
4.1 Comportamento voltamétrico da sulfadiazina.....	14
4.1.1 Escolha do eletrodo de trabalho.....	14
4.1.2 Comportamento ciclovoltagemétrico da sulfadiazina.....	14

4.1.3 Seleção do eletrólito suporte para a redução da sulfadiazina.....	16
4.1.4 Influência do pH do meio.....	17
4.2 Diagnóstico do processo eletródico da sulfadiazina.....	20
4.2.1 Influência da velocidade de varredura de potencial por voltametria cíclica.....	20
4.2.2 Influência da frequência de variação do potencial por voltametria de onda quadrada.....	24
4.2.3 Proposta de mecanismo de redução da sulfadiazina.....	25
4.3 Otimização dos parâmetros experimentais.....	25
4.3.1 Influência do oxigênio.....	26
4.3.2 Limpeza do eletrodo.....	27
4.3.3 Solubilidade da sulfadiazina.....	28
4.4 Otimização dos parâmetros de voltametria de onda quadrada.....	28
4.5 Curva analítica para a sulfadiazina.....	31
4.6 Estudo de repetibilidade.....	32
4.7 Determinação da sulfadiazina em formulações farmacêuticas.....	33
4.7.1 Determinação da sulfadiazina em formulações farmacêuticas por voltametria de onda quadrada.....	33
4.7.1.1 Estudo de recuperação.....	35
4.7.2 Determinação da sulfadiazina em formulações farmacêuticas pelo método oficial amperométrico.....	36
4.7.3 Tratamento estatístico.....	37
6. CONCLUSÕES.....	40
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

Ag/AgCl	eletrodo de prata/cloreto de prata
Au	ouro
ap	altura de pulso
BDD	eletrodo de diamante dopado com boro (do inglês “ boron-doped diamond electrode”)
CV	carbono vítreo
ΔE	diferença de potencial
ΔE_s	incremento de potencial
Δj_p	variação da densidade de corrente de pico
e^-	elétron
E	potencial do eletrodo
E°	potencial padrão do eletrodo
E_p	potencial de pico
E_{pc}	potencial de pico catódico
f	frequência
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
Hz	hertz
j	densidade de corrente
j_p	densidade de corrente de pico
j_{pc}	densidade de corrente de pico catódico
n	número de mols de íons H^+ que participam da semi-reação
MeOH	metanol
MeOH:BR	metanol:tampão Britton-Robinson
mm	milímetro
$mmol L^{-1}$	milimol por litro
mV	milivoltz
$mV s^{-1}$	milivoltz por segundo
$\mu A cm^{-2}$	microamper por centímetro quadrado
$\mu g kg^{-1}$	micrograma por quilograma
n	número de mol de elétrons envolvidos na semi-reação
$ng L^{-1}$	nanograma por litro
$ng mL^{-1}$	nanograma por mililitro
$\mu g L^{-1}$	micrograma por litro

nm	nanômetro
<i>p</i>	para
PABA	ácido <i>p</i> -aminobenzóico
R	coeficiente de correlação
SDZ	sulfadiazina
T	temperatura
t_p	tempo de purga
v	velocidade de variação de potencial
VOQ	voltametria de onda quadrada
<i>vs</i>	versus
v/v	volume/volume

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química do prontosil e da sulfanilamida.....	1
Figura 2. Estrutura química do ácido <i>p</i> -aminobenzóico (PABA).....	2
Figura 3. Estrutura química geral das sulfonamidas.....	2
Figura 4. Estrutura química da sulfadiazina (SDZ).....	3
Figura 5. Estrutura química representando um sal sulfonamida.....	3
Figura 6. Estrutura química geral de uma sulfonamida acetilada.....	3
Figura 7. Modo de variação de potencial e perfil do voltamograma obtido na voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada.....	9
Figura 8. Voltamograma cíclico completo do eletrólito suporte tampão Britton-Robinson 0,04 mol L ⁻¹ pH 6,8 nos eletrodos de Au, CV e BDD (A) sem e (B) na presença da sulfadiazina padrão 1,33 mmol L ⁻¹ ($\nu = 70 \text{ mV s}^{-1}$).....	15
Figura 9. Voltamograma cíclico completo para uma solução da sulfadiazina 1,33 mmol L ⁻¹ no eletrólito suporte tampão Britton-Robinson 0,04 mol L ⁻¹ pH 6,8. ($\nu = 70 \text{ mV s}^{-1}$).....	15
Figura 10. Voltamograma cíclico da sulfadiazina 1,33 mmol L ⁻¹ em: (a) tampão acetato 0,04 mol L ⁻¹ pH 4,5, (b) tampão fosfato 0,04 mol L ⁻¹ pH 6,8 e (c) tampão Britton-Robinson 0,04 mol L ⁻¹ pH 6,8 ($\nu = 70 \text{ mV s}^{-1}$).....	16
Figura 11. Voltamograma cíclico da sulfadiazina 1,33 mmol L ⁻¹ no tampão Britton-Robinson 0,04 mol L ⁻¹ em diferentes pHs ($\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$).....	17
Figura 12. Variação da densidade de corrente de pico catódica da sulfadiazina 1,33 mmol L ⁻¹ em função do pH do tampão Britton-Robinson 0,04 mol L ⁻¹ ($\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$).....	18
Figura 13. Variação do potencial de pico catódico para a sulfadiazina 1,33 mmol L ⁻¹ em função da variação do pH do tampão Britton-Robinson 0,04 mol L ⁻¹ ($\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$).....	18
Figura 14. Voltamograma cíclico da sulfadiazina 1,33 mmol L ⁻¹ no tampão Britton-Robinson 0,04 mol L ⁻¹ pH 6,8 nas ν 20, 30, 40, 60, 70, 80, 90, 100, 125, 250 e 500 mV s ⁻¹	21
Figura 15. Variação do $\log -j_{pc}$ com o $\log \nu$ para a sulfadiazina 1,33 mmol L ⁻¹ em tampão Britton-Robinson 0,04 mol L ⁻¹ pH 6,8.....	21
Figura 16. Variação do j_{pc} com $\nu^{1/2}$ para a sulfadiazina 1,33 mmol L ⁻¹ em tampão Britton-Robinson 0,04 mol L ⁻¹ pH 6,8.....	22
Figura 17. Variação do $j_{pc} \cdot \nu^{-1/2}$ em função de ν para a sulfadiazina 1,33 mmol L ⁻¹ em tampão Britton-Robinson 0,04 mol L ⁻¹ pH 6,8.....	23
Figura 18. Variação do E_{pc} com o $\log \nu$ para a sulfadiazina 1,33 mmol L ⁻¹ em tampão Britton-Robinson 0,04 mol L ⁻¹ pH 6,8.....	23

Figura 19. Voltamogramas de onda quadrada para a sulfadiazina $340 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 com as frequência de variação de potencial (f) de 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 100, 150 e 200 Hz ($a_p = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$). Inserção: Dependência do E_p em função do $\log f$ de 5 a 100 Hz.....	24
Figura 20. Esquema da redução da sulfadiazina no tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8.	25
Figura 21. Voltamogramas de onda quadrada no tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 (a) antes e (c) após a desaeração com N_2 e sua influência na definição do pico de redução da sulfadiazina $279 \mu\text{mol L}^{-1}$ (b) antes, tempo de purga (t_p) zero, e (d) após a desaeração da célula eletroquímica, tempo de purga 10 min. ($f = 60 \text{ Hz}$, $a_p = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$).....	26
Figura 22. Influência da limpeza do eletrodo de carbono vítreo na variação da densidade de corrente de pico e definição nos voltamogramas de onda quadrada da sulfadiazina $279 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 ($f = 60 \text{ Hz}$, $a_p = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$).....	27
Figura 23. Voltamogramas de onda quadrada da sulfadiazina $188 \mu\text{mol L}^{-1}$ para o padrão da sulfadiazina solubilizado em MeOH e MeOH:BR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 nas proporções 4:1 e 1:1 v/v ($f = 60 \text{ Hz}$, $a_p = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$).....	28
Figura 24. Dependência da variação da densidade de corrente de pico com a frequência de variação de potencial (f) para a sulfadiazina $340 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8. ($a_p = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$).....	29
Figura 25. Dependência da variação da densidade de corrente de pico com o incremento de variação de potencial (ΔE_s) para a sulfadiazina $340 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8. ($f = 60 \text{ Hz}$ e $a_p = 40 \text{ mV}$).....	29
Figura 26. Dependência da variação da densidade de corrente de pico com a altura de pulso (a_p) para a sulfadiazina $340 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($f = 60 \text{ Hz}$ e $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$).....	30
Figura 27. Voltamogramas de onda quadrada da sulfadiazina nas concentrações (a) branco, (b) 62,7, (c) 83,1, (d) 103, (e) 123, (f) 142, (g) 161, (h) 199, (i) 236, (j) 271, (k) 307 e (l) $340 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 ($f = 60 \text{ Hz}$, $a_p = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$). Inserção: Dependência da Δj_p em função da concentração da sulfadiazina.....	32
Figura 28. Voltamogramas de onda quadrada obtidos para determinação da sulfadiazina na formulação Suladrin [®] . (a) tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8; (b) adição de $350 \mu\text{L}$ da amostra contendo o fármaco; (c-g) adição de $100 \mu\text{L}$ do padrão da sulfadiazina ($f = 60 \text{ Hz}$, $a_p = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$). Inserção: dependência da Δj_p em função da concentração da sulfadiazina para a adição de padrão.....	34
Figura 29. Voltamogramas de onda quadrada obtidos para determinação da sulfadiazina na formulação Sulfazina [®] . (a) tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8; (b) adição de $350 \mu\text{L}$ de	

amostra contendo o fármaco; (c-g) adição de 100 μ L do padrão da sulfadiazina ($f = 60$ Hz, $a_p = 40$ mV e $\Delta E_s = 5$ mV). Inserção: dependência da Δj_p em função da concentração da sulfadiazina para a adição de padrão.....	35
Figura 30. Esquema de reação de diazotização da sulfadiazina em meio ácido.....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros experimentais otimizados para a análise da sulfadiazina.....	30
Tabela 2. Parâmetros da curva de calibração para a determinação da sulfadiazina.....	31
Tabela 3. Repetibilidade das variações de densidades de correntes de pico medidas no potencial de redução da sulfadiazina $310 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 com o eletrodo de carbono vítreo ($f = 60 \text{ Hz}$, $a_p = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$).....	33
Tabela 4. Resultados obtidos para a quantificação da sulfadiazina em amostras de comprimidos Suladrin [®] e Sulfazina [®]	34
Tabela 5. Estudo da recuperação pelo método da adição do padrão*.....	36
Tabela 6. Resultados obtidos para a quantificação da sulfadiazina em amostras de comprimidos Suladrin [®] e Sulfazina [®]	37
Tabela 7. Tratamento estatístico da determinação da sulfadiazina em formulações farmacêuticas...	38

RESUMO

Sulfadiazina foi quantificada em duas amostras de produtos farmacêuticos usando voltametria de onda quadrada. O sinal analítico foi obtido por redução em vez de oxidação da sulfadiazina sobre eletrodo de carbono vítreo. A determinação eletroanalítica foi realizada em solução-tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ com pH 6,8. A redução irreversível da sulfadiazina foi observada em $-1,49 \text{ V vs. Ag/AgCl}$. A curva analítica foi obtida na faixa de concentração entre $62,7$ e $340 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ($R = 0,9986$) e o limite de detecção foi $10,9 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Para uma amostra analisada, os valores de recuperação ficaram entre $94,9$ e $101,1\%$, enquanto para a outra amostra foram entre $96,0$ e $104,6\%$, indicando que a composição da matriz não interfere nos resultados analíticos. A exatidão da metodologia eletroanalítica foi comparada com o método padrão titulação amperométrica.

Palavras-chave: sulfadiazina, farmacêuticos, redução eletroquímica, voltametria de onda quadrada, eletrodo de carbono vítreo.

ABSTRACT

Sulfadiazine was quantified in two samples of pharmaceutical preparations by square-wave voltammetry. The analytical signal response was obtained by electrochemical reduction instead of oxidation of the sulfa drug at a glassy carbon electrode. The determination was carried out in 0.04 mol L⁻¹ Britton-Robinson pH 6.8 buffer solution. Sulfadiazine reduction was observed at -1.49 V vs. Ag/AgCl in one well-resolved irreversible peak. The analytical curve was obtained in the concentration range of 62.7 to 340 μmol L⁻¹ (R = 0.9986) with a detection limit of 10.9 μmol L⁻¹. For one sample analyzed, recovery values were in the range of 94.9 to 101.1%, while for the other sample they were within 96.0 to 104.6%, indicating no matrix interference effects on the analytical results for both sulfadiazine samples. The accuracy of the electroanalytical methodology was compared to the standard amperometric titration method.

Keywords: sulfadiazine, pharmaceuticals, electrochemical reduction, square-wave voltammetry, glassy carbon electrode.

funcionais do ácido fólico, interferindo assim, na produção das purinas e na síntese final dos ácidos nucleicos impedindo o crescimento dos microorganismos. As células animais também necessitam do ácido fólico para seu desenvolvimento, entretanto, não são capazes de sintetizá-lo e dependem de fontes exógenas não sendo, portanto, sensíveis à ação das sulfonamidas.¹⁻⁴

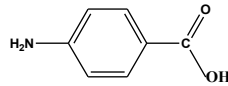


Figura 2: Estrutura química do ácido *p*-aminobenzóico (PABA)

A ação bacteriostática da sulfonamida é interrompida quando há excesso de PABA, diminuição da afinidade entre a enzima e a sulfonamida e presença de pus ou produtos de degradação tecidual, já que estes apresentam timidina e purinas, possibilitando as bactérias a síntese dos ácidos nucleicos.^{3,4}

1.1.3 Estrutura química

Como apresentado na figura 3 as sulfonamidas podem ser representadas por uma fórmula geral que caracterize sua estrutura química.

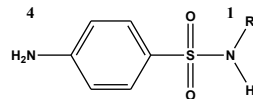


Figura 3: Estrutura química geral das sulfonamidas

Denomina-se sulfanilil o grupo $p\text{-NH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-SO}_2\text{-}$, sulfanilamido o grupo $p\text{-NH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-SO}_2\text{-NH-}$ e sulfamil o grupo $\text{-SO}_2\text{-NHR}$ sendo, o (N1) o nitrogênio sulfonamidico e (N4) o nitrogênio do grupo anilínico. Para preservar sua atividade antibacteriana, as sulfonamidas devem manter sua estrutura química semelhante ao PABA, apresentando anel benzênico com dois substituintes orientados na posição para: o grupo 4-amino e o grupo 1-sulfonamida substituído.⁵

A sulfonamida estudada neste trabalho é conhecida comercialmente como sulfadiazina (4-amino-2-N-pirimidinil-benzenossulfonamida) (Figura 4). A sulfadiazina possui ampla ação como agente sistêmico antibacteriano, sendo indicada para o tratamento de febre reumática em pacientes alérgicos a penicilina e também no tratamento do tracoma e toxoplasmose ocular.^{1,3}

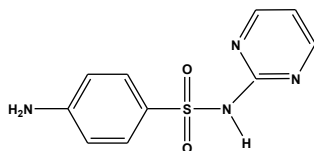


Figura 4: Estrutura química da sulfadiazina (SDZ)

1.1.4 Propriedades físico-químicas

As sulfonamidas são pós cristalinos brancos que apresentam baixa solubilidade em água. São classificados como ácidos fracos e formam sais ao reagirem com bases aumentando sua solubilidade na água (figura 5). As sulfonamidas podem precipitar na urina, sobretudo em pH neutro ou ácido formando cristalúrias.^{1,3,5}

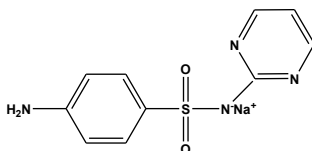


Figura 5: estrutura química representando um sal sulfonamida.

1.1.5 Aspectos farmacocinéticos

As sulfonamidas são, usualmente, administradas por via oral com rápida absorção pelo estômago e intestino delgado se dispersando em ampla escala pelos tecidos, líquidos corporais, placenta e feto.¹⁻⁴

No fígado, as sulfonamidas são metabolizadas formando como principal produto um derivado acetilado que não apresenta ação antibacteriana (Figura 6). As sulfonamidas solúveis são excretadas na urina na forma de metabólitos acetilados permanecendo, contudo, uma quantidade suficiente do fármaco ativo para o tratamento de infecções do trato urinário. As que apresentam baixa solubilidade são excretadas em grande parte nas fezes.²⁻⁴

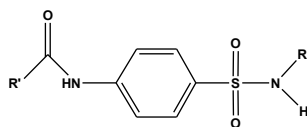


Figura 6. Estrutura química geral de uma sulfonamida acetilada.

SAs sulfonamidas, de acordo com seu tempo de meia-vida podem ser divididas em três grupos: a) ação curta: duração de meia-vida entre 6 e 9 horas, grupo que inclui a sulfadiazina, b) ação intermediária: duração de meia vida entre 10 e 13 horas, c) ação longa: duração de meia-vida entre 7 e 10 dias.^{2,3}

1.1.6 Reações adversas

As sulfonamidas podem produzir inúmeros efeitos colaterais consistindo os mais comuns: febre, erupções cutâneas, fotossensibilidade, urticária, náusea, vômitos, diarreia, e dificuldade atribuíveis ao trato urinário. Outros efeitos adversos incluem estomatite, conjuntivite, artrite, distúrbios hematopoéticos, hepatite, dermatite exfoliativa, poliarterite nodosa, psicose e muitos outros.¹⁻⁴

1.1.7 Aspectos clínicos e de saúde pública

O baixo custo na produção e distribuição inclui as sulfonamidas como um dos principais agentes antimicrobianos disponíveis em muitas áreas do mundo em fase de desenvolvimento. Sua eficácia em tratamentos de distúrbios como: infecções do trato urinário e tracoma, justificam seu uso clínico. Por serem utilizadas como medidas profiláticas ou terapêuticas na medicina veterinária, as sulfonamidas podem ser encontradas como: resíduos em alimentos de origem animal como carnes, leite, ovos e seus derivados.³

1.2 Métodos de análise das sulfonamidas

O método oficial de análise das sulfonamidas encontrado na farmacopéia americana⁶ utiliza a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), entretanto, a farmacopéia britânica⁷ traz a titulação amperométrica como o método oficial de análise.

Inúmeros trabalhos utilizando as técnicas de CLAE para a determinação de sulfonamidas são encontrados na literatura sendo muito empregadas como parâmetros de comparação e validação de metodologias.

1.2.1 Métodos de separação

Prat e colaboradores⁸ desenvolveram um método para a determinação de seis sulfonamidas que são: sulfadiazina, sulfadimidina, sulfametoxidiazina, sulfacloropiradizina, sulfadimetoxina e

sulfaquinoxalina, em amostras de água e solo através da técnica de CLAE acoplado a um detector fluorométrico utilizando uma coluna LiChrosfer 100 RP-18, no qual a preparação das amostras de água foram realizadas por extração de fase sólida e as de solo por agitação mecânica e irradiação de microondas. Foi obtido um limite de detecção de $1 - 8 \text{ ng L}^{-1}$ para as amostras de água e de $1 - 6 \text{ ng L}^{-1}$ para as amostras de solo.

Conley e colaboradores⁹ propuseram um procedimento de CLAE acoplado a um espectrômetro de massa com preparação das amostras por extração de fase sólida para a determinação de uma mistura de treze formulações de diferentes classes farmacêuticas, incluindo a sulfametoxazol, em águas superficiais. Utilizando uma coluna C-18 para as análises encontraram um limite de detecção $2,97 \text{ ng L}^{-1}$ para a sulfametoxazol.

MacArdell e colaboradores¹⁰ determinaram o teor de sulfametazina, sulfadiazina, sulfapiridina, sulfametazol e sulfametoxazol por CLAE em amostras de rede de esgoto. As amostras foram preparadas por extração líquida pressurizada utilizando a mistura metanol:água (50:50, v/v) como solvente de extração a $100 \text{ }^\circ\text{C}$ numa pressão de 100 bar. Os limites de quantificação encontrados para as sulfonamidas foram entre $4 - 41 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$.

Cass e Pereira¹¹ desenvolveram um método para a determinação simultânea de sulfametoxazol e trimetoprima em leite bovino por CLAE com injeção direta da amostra na coluna. A fase móvel utilizada foi tampão fosfato $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,0:acetonitrila em gradientes previamente definidos para a eluição das proteínas do leite, transferência da sulfametoxazol e trimetoprima para a coluna C-8 e separação, para posterior detecção num comprimento de onda de 265 nm. A curva de calibração mostrou-se linear na faixa de $25 - 800 \text{ ng mL}^{-1}$ e $50 - 400 \text{ ng mL}^{-1}$ para a sulfametoxazol e trimetoprima, respectivamente, encontrando-se um limite de detecção de 15 ng mL^{-1} para a sulfametoxazol e 25 ng mL^{-1} para a trimetoprima.

Preechaworapun e colaboradores¹², para a determinação de quatro sulfonamidas (sulfadiazina, sulfametazina, sulfadimetoxina e sulfamonometoxina) em amostras de ovos, propuseram um método de CLAE através de um sistema de injeção de fluxo acoplado a um detector amperométrico usando o eletrodo de diamante dopado com boro (BDD). As sulfonamidas foram eletroquimicamente investigadas no eletrodo de BDD e mostraram um pico de oxidação irreversível em aproximadamente $+ 1,1 \text{ V vs Ag/AgCl}$. As sulfonamidas apresentaram um limite de detecção na faixa de $11 - 32 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e recuperação de $90,0 - 107,7\%$.

Wang e colaboradores¹³ realizaram uma extensa revisão sobre o uso de cromatografia líquida acoplada à espectroscopia de massa e ultravioleta-visível para a análise residual de sulfonamidas em leite e carne.

Huang e colaboradores¹⁴ desenvolveram um método simplificado e rápido para a determinação de resíduo de sulfonamidas em leite. As sulfonamidas foram extraídos por agitação

com etanol:ácido acético (97:3, v/v) seguido de centrifugação. A cromatografia foi feita em uma coluna C-8 (tipo éter), em condição isocrática tendo como fase móvel acetonitrila:água (5:95, v/v), e um arranjo de fotiodo como detector. A faixa linear para a determinação foi de 50 – 10.000 $\mu\text{g L}^{-1}$ para a sulfanilamida e 100 – 10.000 $\mu\text{g L}^{-1}$ para a sulfadiazina, sulfametazina e sulfamerazina com um coeficiente de correlação de 0,998 para cada composto. Os limites de detecção para a sulfanilamida e sulfadiazina foram de 30 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 60 $\mu\text{g L}^{-1}$ para a sulfametazina e sulfamerazina.

1.2.2 Métodos eletroanalíticos

A presença do grupo amino primário ($-\text{NH}_2$) e do grupo sulfamil ($-\text{SO}_2\text{NHR}$) na estrutura química das sulfonamidas indicam que estas substâncias devem ser eletroativas. Msagati e Ngila¹⁵ verificaram que o processo de oxidação das sulfonamidas ocorre no grupo amino e a redução no grupo sulfamil sendo a natureza do grupo R, um fator determinante no potencial em que a sulfonamida é reduzida possibilitando o estudo de amostras contendo mais de uma sulfonamida mas exerce entretanto, pouquíssima influência em seu potencial de oxidação oscilando este em torno de +1,1 V vs SCE nas sulfonamidas que apresentam o grupo amino primário em sua estrutura.

Souza e colaboradores¹⁶ desenvolveram uma metodologia para a quantificação individual de duas sulfonamidas em formulações farmacêuticas por voltametria de onda quadrada (VOQ) usando o eletrodo BDD. A determinação eletroanalítica da sulfadiazina foi feita em etanol + H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} 50/50 (v/v) e da sulfametoxazol em etanol + tampão fosfato pH 6,0 50/50 (v/v). Encontrou-se para ambas um único pico de oxidação irreversível num potencial em torno de +1,1 V vs SCE sendo possível observar através do estudo da velocidade que, o processo de transferência de elétrons é controlado por difusão para as duas sulfonamidas. A faixa linear encontrada foi 8,01 – 119 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a sulfadiazina e 6,10 – 60,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a sulfametoxazol, com limite de detecção de 2,19 e 1,15 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (548 e 288 $\mu\text{g L}^{-1}$) respectivamente. A metodologia eletroanalítica foi comparada com o método padrão CLAE, e os valores para os erros relativos entre o método proposto e o padrão foram -4,31% para a sulfadiazina e -0,79% para a sulfametoxazol.

Carrazon e colaboradores¹⁷ realizaram o estudo eletroanalítico a partir da oxidação da sulfadiazina sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo (CV) utilizando a voltametria cíclica e a voltametria de pulso diferencial. Estudos voltamétricos indicaram uma corrente limite controlada por difusão. A técnica de voltametria de pulso diferencial foi usada em uma faixa de concentração de 15 a 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (3,75 a 15,02 mg L^{-1}) para a determinação de sulfadiazina em formulações farmacêuticas.

Carrazon e colaboradores¹⁸ estudaram o processo de oxidação da succinilsulfatiazol e

ftalilsulfatiazol no eletrodo de CV utilizando diferentes técnicas voltamétricas. A corrente limite mostrou-se controlado por difusão nas faixas de 10 – 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a succinilsulfatiazol e 20 – 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a ftalilsulfatiazol. Os limites de detecção encontrados para a succinilsulfatiazol e ftalilsulfatiazol através da técnica de voltametria de pulso diferencial foram de 3,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 4,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (104 e 132 $\mu\text{g L}^{-1}$), respectivamente.

Özkorucuklu e colaboradores¹⁹ prepararam um filme polimérico com uma molécula orgânica impressa sobre o grafite de um lápis para a determinação da sulfametoxazol em produtos farmacêuticos por voltametria de pulso diferencial utilizando como eletrólito suporte tampão Britton-Robinson+acetonitrila 50/50 (v/v) pH 2,5. A molécula modelo utilizada durante a eletrodeposição do pirrol a ser impressa na matriz polimérica foi a sulfametoxazol que era removida através da re-oxidação do polímero em uma solução de NaOH 0,1 mol L^{-1} . A curva de calibração da sulfametoxazol apresentou faixa linear de 25 – 750 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e o limite de detecção encontrado foi de 0,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (95,04 $\mu\text{g L}^{-1}$)

Momberg e colaboradores²⁰ estudaram a oxidação do ácido sulfanílico e oito sulfonamidas em tampão Britton-Robinson. As sulfonamidas estudadas e o ácido sulfanílico exibiram um pico de oxidação irreversível num processo envolvendo a transferência de 2 mols de elétrons sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo. Observou-se dependência direta do potencial de pico com o pH do meio nos compostos estudados viabilizando a uso da voltametria de pulso diferencial na determinação de algumas misturas contendo sulfonamidas. A sulfaguanidina foi determinada em tabletes obtendo-se uma faixa linear de concentração de 10 – 80 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em pH 7,0 e um limite de detecção de 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (140 $\mu\text{g L}^{-1}$).

Sabry²¹ utilizou a 2-acetilbutirolactona como reagente analítico para formar as α -arilhidrazono- γ -butirolactona com arilaminas primárias. A presença da azometina (>C=N-), um sítio eletro-ativo, nas α -arilhidrazono- γ -butirolactona possibilitaram sua redução no eletrodo de mercúrio. Estudos mostraram que em meio ácido as α -arilhidrazono- γ -butirolactona adsorvem na superfície do eletrodo de mercúrio tornando a voltametria de redissolução adsortiva a técnica mais eficaz na determinação. As arilaminas primárias utilizadas neste estudo foram: sulfadiazina e sulfametoxazol, analisadas em amostras comerciais e biológicas. A curva de calibração da sulfadiazina-hidrazona mostrou-se linear na faixa de concentração de 8 – 40 $\mu\text{g L}^{-1}$, $R = 0,9988$, apresentando a técnica limites de quantificação e detecção de 6 e 2 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

Fogg e colaboradores²²⁻²⁴ realizaram um minucioso estudo explorando a formação de complexos das sulfonamidas com Cu (II) e a propriedade adsortiva deste complexo no eletrodo de mercúrio. Utilizando o EDTA pH 6,0, tampão fosfato pH 6,0 e o tampão Britton-Robinson em pHs diversos como eletrolito suporte. Valendo-se das técnicas voltamétricas de redissolução catódica utilizando um potencial de acúmulo de -0,10 V durante dois minutos, a sulfadimidina mostrou-se

linear na faixa de 10 – 150 nmol L⁻¹, obtendo-se um limite de detecção de 1 nmol L⁻¹ (280 ng L⁻¹) em tampão fosfato pH 6,0. A sulfacloropiridazina também foi determinada, indiretamente, no tampão Britton-Robinson pH 3,0, a curva de calibração apresentou boa linearidade e um limite de detecção de 1,7 nmol L⁻¹ (476 ng L⁻¹).

Kotouček e colaboradores²⁵ investigaram a redução da salazosulfapiridina, sulfametoxazol e trimetoprima em meio aquoso utilizando o eletrodo de mercúrio gotejante e estático. Ambas as sulfonamidas e a trimetoprima apresentaram adsorção na superfície do eletrodo de mercúrio favorecendo o uso da voltametria de redissolução adsortiva para a determinação destes compostos. Limites de detecção de 0,21, 8,40 e 0,22 µg L⁻¹ para a salazosulfapiridina, sulfametoxazol e trimetoprima, respectivamente, mostram a viabilidade do uso desta técnica para a análise a nível traço destes compostos.

Msagati e Ngila¹⁵ sintetizaram eletroquimicamente o polímero 3-metil tiofeno sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo e desenvolveram metodologias para a determinação de sete sulfonamidas no tampão Britton-Robinson pH 6,26. Nestas condições a sulfadiazina apresentou uma faixa linear de concentração de 0,2 – 3200 µmol L⁻¹ (50,06 µg L⁻¹ a 801 mg L⁻¹) Os resultados obtidos sugerem a aplicabilidade deste eletrodo para a determinação das sulfonamidas em amostras veterinárias e de interesse biológico.

Dias e colaboradores²⁶ desenvolveram um método para a determinação simultânea de três sulfonamidas no eletrodo gotejante de mercúrio. Quando analisados individualmente, os polarogramas de pulso diferencial da sulfadiazina, sulfamerazina e sulfametazina apresentaram um único pico de redução nos potenciais -700, -790 e -1140 mV, respectivamente, para cada sulfonamida no tampão Britton-Robinson pH 2, mas, em misturas contendo duas ou três sulfonamidas, observou-se a sobreposição do sinal analítico das sulfonamidas presentes impossibilitando sua análise direta por polarografia de pulso diferencial. Um método multivariado de análise foi aplicado obtendo-se resultados satisfatórios na determinação da mistura destas sulfonamidas em formulações veterinárias e farmacêuticas.

Abdullin e colaboradores²⁷ desenvolveram uma metodologia para a determinação coulométrica de derivados de aminas aromáticas em soluções modelos e formulações farmacêuticas contendo sulfanilamida, sulfaguanidina, sulfadimidina, sulfatiazol e sulfametoxazol. O bromo, eletroquimicamente gerado; foi utilizado como titulante e o ponto final foi determinado amperometricamente. Os procedimentos desenvolvidos foram simples e rápidos encontrando-se um desvio padrão relativo entre 1 – 5%.

Valendo-se da conhecida eletroatividade da sulfadiazina, a voltametria cíclica e a voltametria de onda quadrada foram as técnicas empregadas para caracterizar o sistema eletroquímico e o desenvolvimento da metodologia para a determinação da sulfadiazina.

As técnicas voltamétricas empregadas neste estudo apresentam comportamentos que podem ser descritos pela equação de Randles-Sevcik

$$i_p = 2,686 \times 10^5 n^{3/2} A c D^{1/2} \nu^{1/2}$$

sendo i_p a densidade de corrente de pico em A, n o número de mols de elétrons por mol de analito reduzido, A a área do eletrodo em cm^2 , D o coeficiente de difusão em $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$, c a concentração em mol cm^{-3} e ν a velocidade de variação de potencial em V s^{-1} .²⁸⁻³¹

Na voltametria cíclica uma variação linear de potencial sobre a superfície do eletrodo de trabalho é feita de modo triangular obtendo-se um voltamograma da densidade de corrente em função do potencial aplicado (Figura 7).²⁸⁻³¹ Já na voltametria de onda quadrada, ocorre uma variação de potencial em forma de escada, onde aplicando-se um pulso direto e um pulso reverso em cada degrau de potencial, obtendo, no fim de cada pulso, uma corrente que pode ser expressa num voltamograma como corrente direta (i_d), corrente reversa (i_r) ou a corrente resultante (Δi) em função do potencial aplicado (Figura 7). O ajuste de parâmetros como altura de pulso, a_p , e incremento variação de potencial, ΔE_s , proporcionam elevada seletividade e sensibilidade a voltametria de onda quadrada tornando-a uma das mais importante ferramenta eletroanalítica.^{28,31-33}

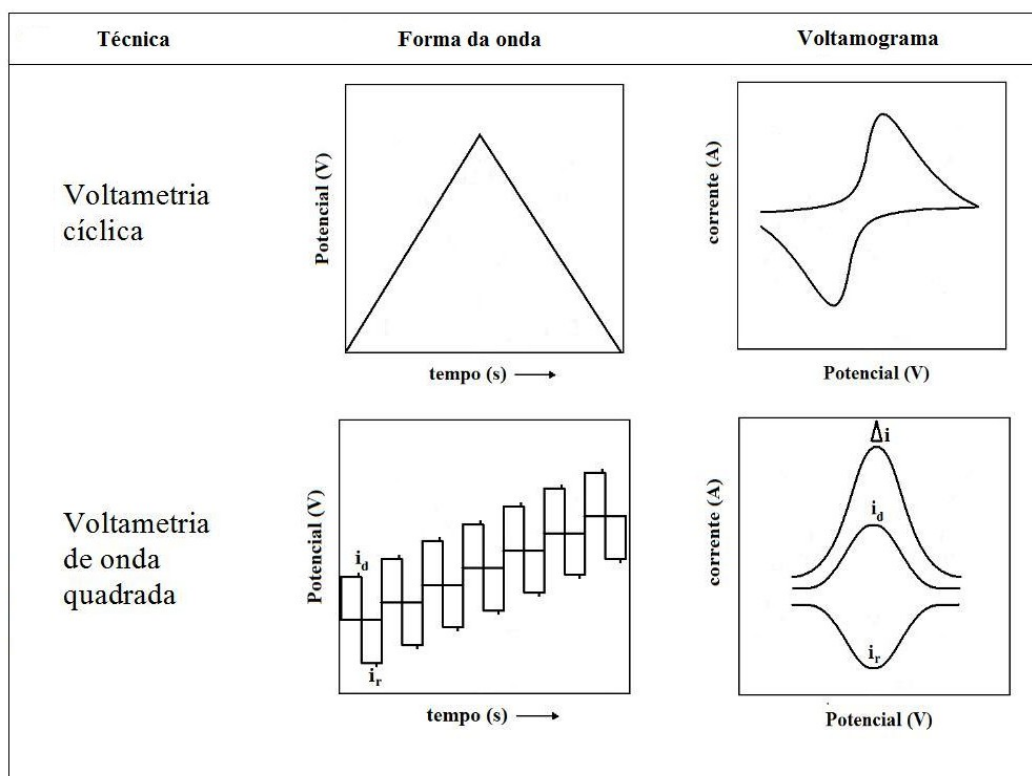


Figura 7. Modo de variação de potencial e perfil do voltamograma obtido na voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada.

2. OBJETIVOS

2. Objetivo geral

Este trabalho tem como objetivo geral estudar o comportamento eletroquímico da redução da sulfadiazina sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo através dos métodos de voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada e desenvolver uma metodologia eletroanalítica para a sua determinação em formulações farmacêuticas por voltametria de onda quadrada.

2.2 Objetivos específicos

- 1 - Verificar a resposta eletroquímica da redução da sulfadiazina sobre os eletrodos de carbono vítreo, platina, ouro e diamante dopado com boro por voltametria cíclica.
- 2 - Observar a influência do eletrólito suporte sobre a resposta analítica da redução da sulfadiazina utilizando a voltametria cíclica.
- 3 - Estudar a influência do pH sobre a resposta analítica da redução da sulfadiazina por voltametria cíclica.
- 4 - Investigar o comportamento eletroquímico da sulfadiazina sobre o eletrodo de carbono vítreo por voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada.
- 5 - Otimizar os parâmetros experimentais e da técnica de voltametria de onda quadrada como: frequência, altura de pulso e incremento de variação de potencial para a determinação da sulfadiazina,
- 6 - Desenvolver nova metodologia para a determinação da sulfadiazina em formulações farmacêuticas utilizando o eletrodo de carbono vítreo e a voltametria de onda quadrada.
- 7 - Comparar os resultados obtidos durante o desenvolvimento da metodologia com os resultados obtidos através do método oficial amperométrico.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados eram de grau analítico e não foram purificados antes do uso. Água destilada e desionizada ($0,71 \pm 0,07 \text{ M}\Omega$) foi utilizada para a preparação das soluções e as medidas foram realizadas em um ambiente com temperatura de $23 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. As soluções utilizadas como eletrólito suporte foram preparadas misturando-se os reagentes conforme descrito a seguir: tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (ácido acético glacial (Merck) $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, ácido bórico (Merck) $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ e ácido fosfórico (FMaia) $0,04 \text{ mol L}^{-1}$), tampão fosfato $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (hidrogenofosfato de sódio (Reagen) $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ e di-hidrogenofosfato de sódio (Reagen) $0,04 \text{ mol L}^{-1}$) e tampão acetato $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (acetato de sódio (Reagen) $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ e ácido acético glacial (Merck) $0,04 \text{ mol L}^{-1}$).

Solução tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8, tampão fosfato $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 e tampão acetato $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5 foram testados como eletrólito suporte. Quando necessário, o pH do tampão fosfato foi ajustado com ácido fosfórico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e os tampões Britton-Robinson e acetato, ajustados com hidróxido de sódio $0,2 \text{ mol L}^{-1}$.

A solução estoque do padrão de sulfadiazina $4,00 \text{ mmol L}^{-1}$ (Sigma) foi preparado em metanol e no eletrólito suporte adequado para o experimento programado numa proporção 4:1 v/v, respectivamente. O padrão era acondicionado no refrigerador e utilizado, somente após atingir a temperatura ambiente sendo as soluções de trabalho preparadas pela adição de alíquotas da solução estoque diretamente na célula eletroquímica contendo o eletrólito suporte.

Para o método oficial comparativo, utilizou-se KBr (VETEC) além das soluções de HCl (VETEC) 2 mol L^{-1} e NaNO_2 (VETEC) $0,105 \text{ mol L}^{-1}$ padronizado com KMnO_4 (VETEC) $0,102 \text{ mol L}^{-1}$.^{7,34}

3.2 Equipamentos

As medidas eletroquímicas foram realizadas utilizando-se um potenciostato/galvanostato EG&G PARTM, modelo 263A, em conjunto com o software M270 e um potenciostato PGZ100 da Radiometer Copenhagen em conjunto com o software Voltmaster 4.0 acoplado a um computador comercial. Utilizou-se um sistema convencional de cela eletroquímica com capacidade de 15 mL contendo três eletrodos: o eletrodo de carbono vítreo (CV-BAS MF 2012) (diâmetro: 4 mm) como eletrodo de trabalho, Ag/AgCl (KCl 3 mol L^{-1} saturado com AgCl) como eletrodo de referência e um fio de platina como contra eletrodo além do eletrodo não comercial de diamante dopado com

boro (fabricado *pelo Centre Suisse de Electronique et Microtechnique SA*, em Neuchatêl, Suíça com teor de boro de 8000 ppm e área de 0,36 cm²), o eletrodo de platina (Pt-BAS MF 2012) e o eletrodo de ouro (Au-PAR G0227).

O ponto final da titulação volumétrica, método oficial comparativo, foi determinado amperometricamente com dois eletrodos de platina polarizados ($\Delta E = 50$ mV) com área de 0,5 cm² distantes 1,5 cm.³⁵ Um agitador magnético marca Marte modelo MAG 01H foi utilizado para homogeneização e durante a desaeração da cela eletroquímica e as medidas de pH foram realizadas em pHmetro ORION modelo 720A. Um ultra-som METASOM-14 foi utilizado para a dissolução dos reagentes e amostras farmacêuticas além da limpeza do eletrodo de trabalho.

3.3 Desaeração do sistema

O eletrólito suporte após ser transferido para a cela eletroquímica, era borbulhado durante 10 min, sobre constante agitação, com N₂ industrial para minimizar a presença de oxigênio na cela antes de cada voltamograma. Quando adicionadas alíquotas do padrão da sulfadiazina, a cela era desaerada e homogeneizada por 1 min, respeitando-se um tempo de 15 s para completo repouso na cela, antes de ser obtido o voltamograma, procedimento este também utilizado para a determinação da sulfadiazina em formulação farmacêutica. A atmosfera era mantida com N₂ durante os experimentos.

3.4 Limpeza do eletrodo

O eletrodo de carbono vítreo, antes de ser acomodado na cela eletroquímica, era rinçado com água destilada e, na capela, depositava-se 2 gotas de metanol na superfície do disco de carbono vítreo secando-o em seguida com papel fino e neutro sendo em seguida obtido os voltamogramas assim como nos demais eletrodos. A exceção é o eletrodo de BDD cuja limpeza e ativação eletroquímica foi realizada conforme relata Souza *et al.*¹⁶

3.5 Estudos voltamétricos

Os estudos de voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada foram realizados após a adição de microalíquotas do padrão da sulfadiazina em uma célula contendo 10 mL do eletrólito suporte. Os voltamogramas foram registrados efetuando-se uma varredura de potencial dentro de intervalos definidos de potencial conforme descrito anteriormente respeitando os intervalos de 0 a -1,70 V *vs* Ag/AgCl para os voltamogramas cíclicos e de -0,60 a -1,70 V *vs* Ag/AgCl nos

voltamogramas de onda quadrada.

Com a definição do intervalo de potencial a ser explorado, foi avaliada a influência da velocidade de variação de potencial para a redução da sulfadiazina por voltametria cíclica, e parâmetros como frequência (f), altura de pulso (ap) e incremento de potencial (ΔE_s) além da influência de sua concentração por voltametria de onda quadrada, visando obter informações prévias sobre o mecanismo eletródico envolvido no processo de redução e desenvolvimento de uma metodologia para sua determinação.

3.6 Procedimento para a determinação da sulfadiazina em formulações farmacêuticas

Determinou-se a sulfadiazina na formulação farmacêutica Suladrin[®], Laboratório Catarinense S.A. e Sulfazina[®], Laboratório Sobral, ambas contendo 500 mg do medicamento no rótulo e alguns excipientes inativos. Foram pesados 08 comprimidos de cada formulação farmacêutica e macerados até um pó fino, encontrando-se um valor médio de 601,2 mg e 598,5 mg para cada comprimido das formulações Suladrin[®] e Sulfazina[®], respectivamente. Uma porção do pó fino, equivalente a 12,5 mg de cada fármaco, foi acuradamente pesada e transferida para um balão volumétrico de 10 mL avolumando-se em seguida, com metanol:tampão Britton-Robinson 0,04 mol L⁻¹ pH 6,8 na proporção 4:1 v/v. Cada balão volumétrico contendo a amostra foi agitado e deixado em ultra-som por 15 min a fim de favorecer sua completa dissolução.

Uma alíquota de 350 μ L da amostra foi adicionada a célula eletroquímica contendo 10 mL do tampão Britton-Robinson 0,04 mol L⁻¹ pH 6,8 fazendo-se em seguida, uma varredura no sentido a favorecer a redução da sulfadiazina registrando assim, os voltamogramas de onda quadrada para a amostra. Em seguida sucessivas adições de 100 μ L do padrão de sulfadiazina foram realizadas e os voltamogramas registrados após procedimento de desaeração e homogenização, item 3.3.

3.7 Determinação amperométrica

Em um becker de 200 ml, foram dissolvidos 200 mg do fármaco Suladrin[®] e 3,00 g de KBr em 20 mL de HCl 2 mol L⁻¹ e 70 mL de H₂O. Em banho de gelo e constante agitação, esta solução foi titulada com NaNO₂ 0,105 mol L⁻¹ sendo utilizado um detector amperométrico para determinar o ponto final. Ponto este observado quando os eletrodos eram despolarizados, excesso de titulante, surgindo um fluxo de corrente. Sabendo-se que cada mL de NaNO₂ 0,1 mol L⁻¹ é equivalente a 25,03 mg de sulfadiazina foi possível quantificar a massa de sulfadiazina presente no fármaco. O procedimento foi realizado em triplicata realizando também, para o fármaco Sulfazina[®], o mesmo procedimento.^{7,34}

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Comportamento voltamétrico da sulfadiazina

4.1.1 Escolha do eletrodo de trabalho

Uma etapa de fundamental importância no desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica é a escolha do eletrodo de trabalho. Os trabalhos encontrados na literatura descrevem, em sua grande maioria, a redução da sulfadiazina sobre a superfície do eletrodo de mercúrio.²¹⁻²⁶ Devido a conhecida toxicidade do mercúrio e seus sais há uma crescente procura por materiais onde seja possível a redução de moléculas orgânicas ou inorgânicas assim, os eletrodos de platina (Pt), ouro (Au), diamante dopado com Boro (BDD) e carbono vítreo (CV), foram utilizados para verificar o comportamento eletroquímico da sulfadiazina frente a potenciais que favoreçam sua redução. A figura 8 A apresenta os voltamogramas cíclicos do eletrólito suporte tampão Britton-Robinson 0,04 mol L⁻¹ pH 6,8 variando o potencial de 0 V a -1,70 V vs Ag/AgCl com velocidade de variação de potencial (v) de 70 mV s⁻¹ nos eletrodos de Pt, Au e BDD. A adição do padrão da sulfadiazina 1,33 mmol L⁻¹ mesmo proporcionando significativo aumento na densidade de corrente (j) quando comparados com seus brancos (Figura 8 B), não apresentou um pico característico como o encontrado sobre a superfície do CV para o padrão da sulfadiazina (Figura 9), nas mesmas condições que os eletrodos de Au, BDD e Pt, sendo este portanto, o eletrodo utilizado para estudar seu comportamento eletroquímico e posterior determinação.

4.1.2 Comportamento ciclovoltagemétrico da Sulfadiazina

O comportamento ciclovoltagemétrico da sulfadiazina sobre a superfície do eletrodo de CV foi estudado em tampão Britton-Robinson 0,04 mol L⁻¹ pH 6,8. Na figura 9 temos o voltamograma cíclico completo, após varredura de potencial na direção negativa de 0 a -1,70 V voltando, em seguida, ao potencial inicial de 0 V vs Ag/AgCl numa v de 70 mV s⁻¹. O voltamograma cíclico da sulfadiazina 1,33 mmol L⁻¹, na varredura de ida mostrou um único pico bem definido em -1,46 V o qual corresponde a redução do grupo sulfonamida (-SO₂NH-).¹⁵ A ausência de um pico de oxidação na varredura reversa caracteriza como irreversível a reação eletródica para a redução da sulfadiazina.

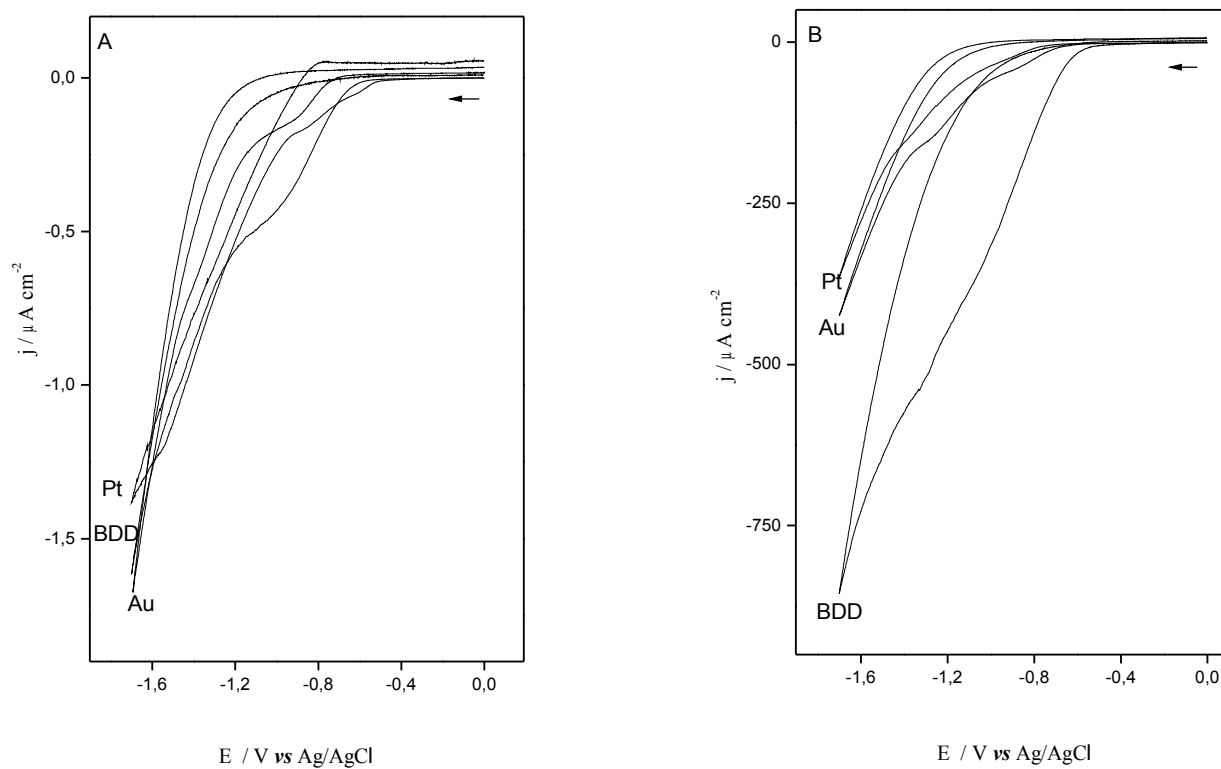


Figura 8. Voltamogramas cíclicos completos do eletrólito suporte tampão Britton-Robinson 0,04 mol L⁻¹ pH 6,8 nos eletrodos de Au, Pt e BDD (A) sem e (B) na presença da sulfadiazina 1,33 mmol L⁻¹ ($\nu = 70 \text{ mV s}^{-1}$).

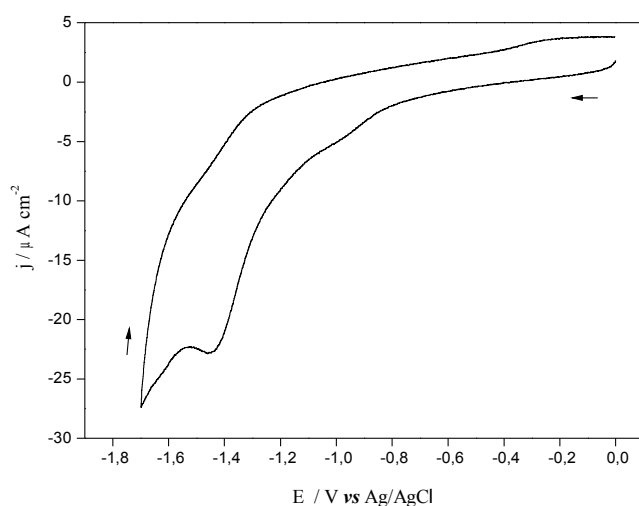


Figura 9. Voltamograma cíclico completo para uma solução de sulfadiazina 1,33 mmol L⁻¹ no eletrólito suporte tampão Britton-Robinson 0,04 mol L⁻¹ pH 6,8 ($\nu = 70 \text{ mV s}^{-1}$).

4.1.3 Seleção do eletrólito suporte para a redução da sulfadiazina

A escolha do eletrólito suporte é de extrema importância em medidas eletroanalíticas já que o mesmo influencia diretamente na intensidade da densidade de corrente de pico (j_p) e no potencial de pico (E_p), além de modificar as propriedades das soluções e a interface eletrodo-solução afetando a termodinâmica e a cinética dos processos de transferência de carga na superfície do eletrodo.³⁶ Portanto, testou-se o tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8, o tampão fosfato $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 e o tampão acetato $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5.

A figura 10 mostra os voltamogramas cíclicos obtidos na redução da sulfadiazina $1,33 \text{ mmol L}^{-1}$ sobre o eletrodo de CV em diferentes tampões com ν de 70 mV s^{-1} . De acordo com estes voltamogramas, observa-se que o pico de redução da sulfadiazina em tampão acetato $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, além da menor intensidade de j_p quando comparado aos demais eletrólitos, teve sua definição de pico comprometida. Já em tampão fosfato $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 mostrou elevada j_p assim como em tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 obtendo-se porém, uma resolução de pico inferior. Por apresentar elevada j_p e melhor definição de pico, o tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 foi escolhido como eletrólito suporte para os demais estudos eletroquímicos e posterior desenvolvimento da metodologia eletroanalítica.

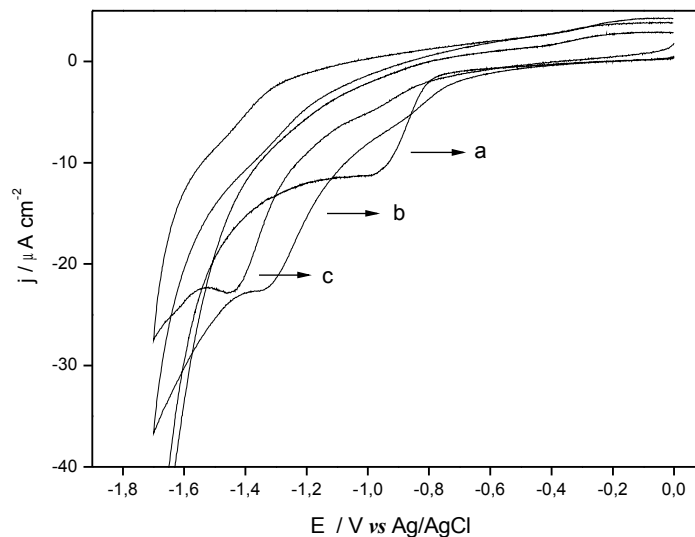


Figura 10. Voltamograma cíclico da sulfadiazina $1,33 \text{ mmol L}^{-1}$ em: (a) tampão acetato $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, (b) tampão fosfato $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 e (c) tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 ($\nu = 70 \text{ mV s}^{-1}$).

4.1.4 Influência do pH do meio

O estudo da influência do pH na intensidade da densidade de corrente de pico e no potencial de pico para a redução da sulfadiazina foi realizado variando-se o pH do tampão Britton-Robinson 0,04 mol L⁻¹ de 2,9 a 10,0. Nos voltamogramas cíclicos na figura 11 é possível constatar a presença de um único pico para a redução da sulfadiazina em toda a faixa de pH estudado bem como o deslocamento do potencial de pico para valores mais negativos com o aumento do pH. Deslocamento este, também relatado por Sabry na redução da sulfadiazina sobre o eletrodo gotejante de mercúrio.²¹ No pH 10,0 um pico com pobre resolução é obtido descartando o meio alcalino para eventuais estudos envolvendo a redução da sulfadiazina. O gráfico da densidade de corrente de pico catódica (j_{pc}) em função do aumento do pH (Figura 12) apresentou um valor máximo no pH 6,8 favorecendo o uso deste pH como sinal analítico para a determinação da sulfadiazina. Portanto, o pH 6,8 foi selecionado para os demais estudos eletroquímicos e eletroanalíticos.

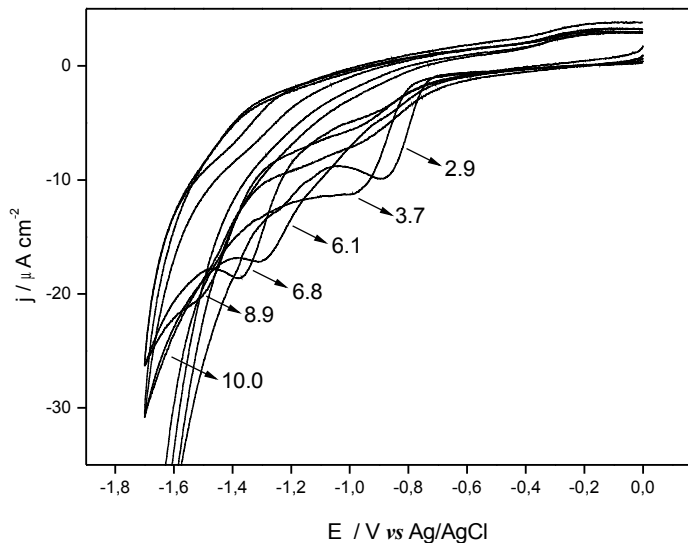


Figura 11. Voltamograma cíclico de sulfadiazina 1,33 mmol L⁻¹ no tampão Britton-Robinson 0,04 mol L⁻¹ em diferentes pHs ($\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$).

O gráfico do potencial de pico (E_p) em função do pH é mostrado na figura 13. O E_p assume valores mais negativos com o aumento do pH, indicando a participação do íon H⁺ na reação de redução da sulfadiazina no eletrodo.

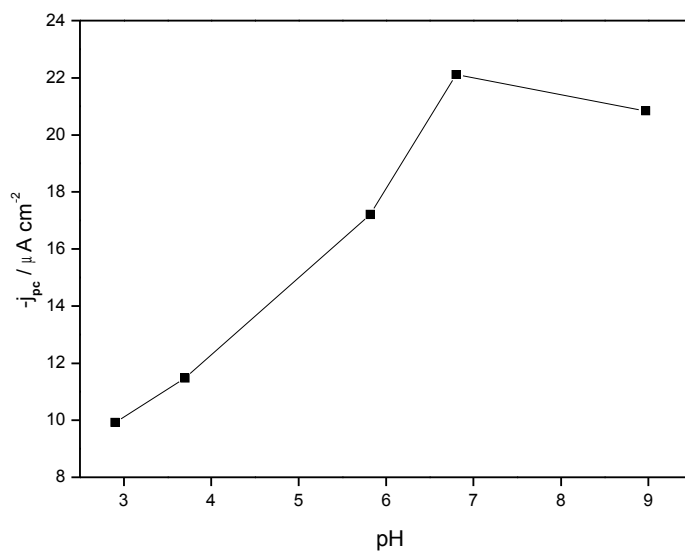


Figura 12. Variação da densidade de corrente de pico catódica da sulfadiazina $1,33 \text{ mmol L}^{-1}$ em função do pH do tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($v = 50 \text{ mV s}^{-1}$)

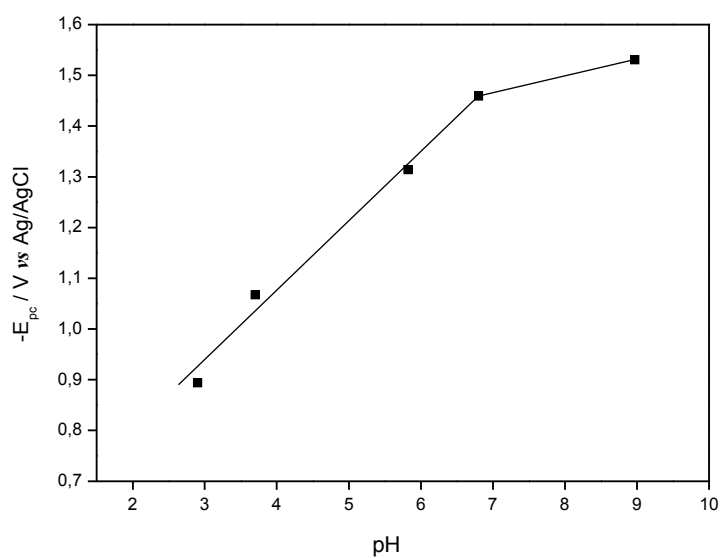
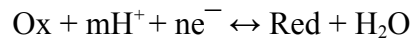


Figura 13. Variação do potencial de pico catódico para a sulfadiazina $1,33 \text{ mmol L}^{-1}$ em função da variação do pH do tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($v = 50 \text{ mV s}^{-1}$).

Assim, partindo da semi-reação:



Onde Ox é a espécie oxidada e Red a espécie reduzida aplicando a equação de Nerst:

$$E = E^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{Ox}][\text{H}^+]^m}{[\text{Red}]} \quad \text{eq. I}$$

Significando o potencial do eletrodo (E), potencial padrão do eletrodo (E°), constante dos gases ideais (R) ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), temperatura (T) (K), o número de mol de elétrons envolvidos na semi-reação (n), a constante de Faraday (F) (96.485 C), o logaritmo natural (ln) ($2,303 \log$) e o número de mol de íons H^+ que participam da semi-reação (m), podemos reescrever a equação de modo que:

$$E = E^\circ + \frac{0,0592}{n} \log \frac{[\text{Ox}]}{[\text{Red}]} + 0,0592 \frac{m}{n} \log [\text{H}^+] \quad \text{eq. II}$$

Considerando a ocorrência de um potencial onde a concentração da espécie reduzida durante varredura de ida é igual a concentração da espécie oxidada na varredura de volta, tanto em um sistema reversível quanto irreversível, temos:

$$E = E^\circ + 0,0592 \frac{m}{n} \log [\text{H}^+] \quad \text{eq. III}$$

Obtendo-se uma relação direta entre o potencial de pico e o pH

$$E_p = E^\circ - 0,0592 \frac{m}{n} \text{pH} \quad \text{eq. IV}$$

Observa-se dois segmentos de reta no gráfico do E_p vs pH, um na faixa de pH entre 3,0 e 6,8 com equação de reta $-E_p = 0,520 + 138 \text{ mV pH}^{-1}$ e outro na faixa de pH entre 6,8 e 9,0 com equação de reta $-E_p = 1,23 + 33 \text{ mV pH}^{-1}$ onde, utilizando a equação IV, é possível estimar a participação de dois mols de íons H^+ e um mol de elétrons na etapa de redução da sulfadiazina sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo no segmento de reta de pH entre 3,0 e 6,8 e a participação de um mol de íons H^+ e dois mols de elétrons na etapa de redução da sulfadiazina sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo na faixa que compreende o pH 6,8 e 9,0 comportamento similar ao encontrado por Diaz e colaboradores para a redução da sulfadiazina no eletrodo de mercúrio em

tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$.¹⁶ Além do potencial formal (E°) de $-1,23 \text{ V}$ para a redução da sulfadiazina em pH 6,8.

O ponto de intersecção no pH 6,8 representa o pKa do grupo sulfonamida ($-\text{SO}_2\text{NH}-$). O pKa reportado na literatura para o grupo sulfonamida da sulfadiazina é 6,5 valor este, bem próximo ao encontrado, experimentalmente, para a redução da sulfadiazina em tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$.^{1,21}

4.2 Diagnóstico do processo eletródico da sulfadiazina

Técnicas que empregam uma varredura triangular, linear ou pulsada de potencial (E) sobre a superfície de um eletrodo estacionário, são de fundamental importância para a obtenção de informações a respeito da cinética eletroquímica neste sítio. A possibilidade do sistema reacional ser acometido de uma reação química durante a variação de potencial nos envolve em um complexo esquema reacional cuja rota eletroquímica pode ser proposta utilizando-se ferramentas teóricas expressas em gráficos que inter-relacionam a velocidade de variação de potencial (ν), frequência de variação de potencial (f), a densidade de corrente de pico (j_p) e o potencial de pico (E_p).

4.2.1 Influência da velocidade de varredura de potencial por voltametria cíclica

O estudo da influência da velocidade de variação do potencial (ν) traz informações a respeito da cinética eletroquímica sobre a superfície de eletrodos planos ou esféricos utilizando as técnicas de voltametria cíclica. Portanto, o comportamento eletroquímico da sulfadiazina $1,33 \text{ mmol L}^{-1}$ foi estudado avaliando a influência da ν , no intervalo de $20\text{-}500 \text{ mV s}^{-1}$, em tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8. A figura 14 traz os voltamogramas cíclicos para diferentes ν sendo possível observar um aumento acentuado da j_{pc} com o aumento da ν além do deslocamento do E_p para valores mais negativos.

A variação do logaritmo da j_{pc} em função do logaritmo da ν é um critério de fundamental importância pois caracteriza o transporte de massa na interface solução/eletrodo. Para o gráfico de $\log j_{pc}$ versus $\log \nu$ um valor de inclinação próximo de 0,5 é esperado em um processo eletródico controlado por difusão e próximo de 1,0 para um processo eletródico controlado por adsorção.³⁷ O gráfico obtido para $\log j_{pc}$ versus $\log \nu$ no tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 (Figura 15) apresentou a equação de reta $\log -j_{pc} = 0,426 + 0,505 \log \nu$ com $R = 0,9938$. O valor de inclinação obtido experimentalmente nestas condições, indica a ocorrência de uma reação controlada por difusão.³⁸ Utilizando o eletrodo de gota pendente de mercúrio, o gráfico de $\log j_{pc}$ versus $\log \nu$ para a sulfadiazina em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 3,45, relatado por Ali, apresentou inclinação de

0,85 indicando um transporte de massa misto ou seja, controlado por adsorção e difusão.³⁹

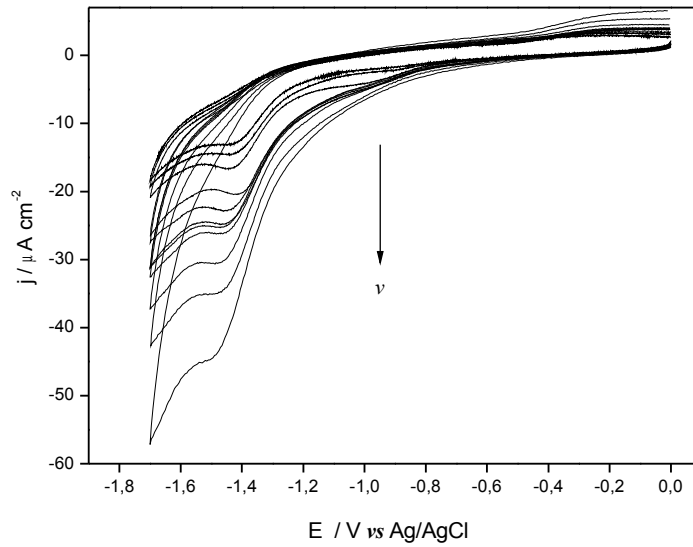


Figura 14. Voltamograma cíclico de sulfadiazina $1,33 \text{ mmol L}^{-1}$ no tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 nas ν 20, 30, 40, 60, 70, 80, 90, 100, 125, 250 e 500 mV s^{-1} .

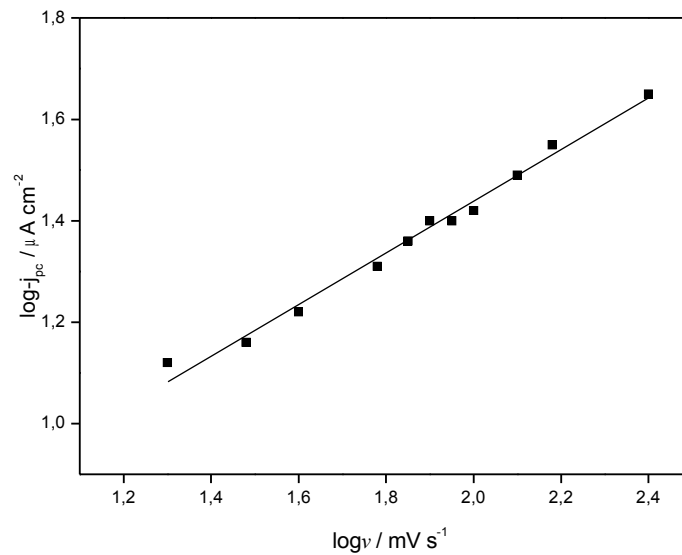


Figura 15. Variação do $\log -j_{pc}$ com o $\log \nu$ para a sulfadiazina $1,33 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8.

A transferência de massa pode ser caracterizada também através do gráfico da j_{pc} em função da $v^{1/2}$. Para um sistema reversível ou irreversível, sem complicações cinéticas, a j_{pc} apresenta variação linear com a $v^{1/2}$ passando pela origem dos pontos, entretanto, se no processo eletródico ocorrer complicação cinética ou estiverem envolvidas reações químicas, antecedendo ou sucedendo, a transferência de elétrons o gráfico pode apresentar desvio de linearidade e um valor diferente de zero para o coeficiente linear.^{29,37,40,41}

Na figura 16, o gráfico da j_{pc} versus $v^{1/2}$ apresenta a equação de reta $-j_{pc} = -1,29 + 2,89 v^{1/2}$ e $R = 0,9959$. A linearidade confirma o controle difusional da reação eletródica e o valor diferente de zero para o coeficiente linear encontrado indica que a redução da sulfadiazina sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo apresenta reações químicas acopladas a transferência de elétrons.

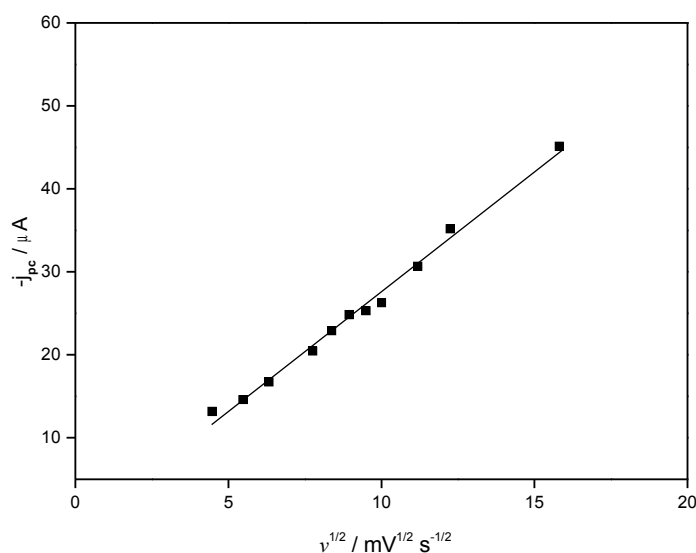


Figura 16. Variação do j_{pc} com $v^{1/2}$ para a sulfadiazina $1,33 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8.

A separação dos efeitos cinéticos que ocorrem em um processo controlado por difusão pode ser realizado observando-se a variação da função densidade de corrente ($j_{pc} \cdot v^{-1/2}$), em função da v . Para um sistema reversível ou irreversível, aonde não ocorrem reações químicas pré ou pós transferência de elétrons, a função corrente independe da velocidade de variação do potencial. O gráfico mostrado na figura 17, apresentou variação da $j_{pc} \cdot v^{-1/2}$ em função da v para a redução da sulfadiazina caracterizando a presença de reação química associada a transferência dos elétrons.^{37,41}

A irreversibilidade do processo eletródico pode ser expressa a partir da relação linear existente no gráfico do potencial de pico catódico (E_{pc}) em função do logaritmo de v . O gráfico do

E_{pc} versus $\log v$ (Figura 18) mostrou-se linear, apresentando a equação de reta $-E_{pc} = 1,30 + 0,094 \log v$ com $R = 0,9896$, comportamento idêntico ao relatado por Ali para a redução da sulfadiazina no eletrodo de gota pendente de mercúrio no tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 3,45, tal como o esperado para um processo de transferência eletrônica irreversível.^{37,39}

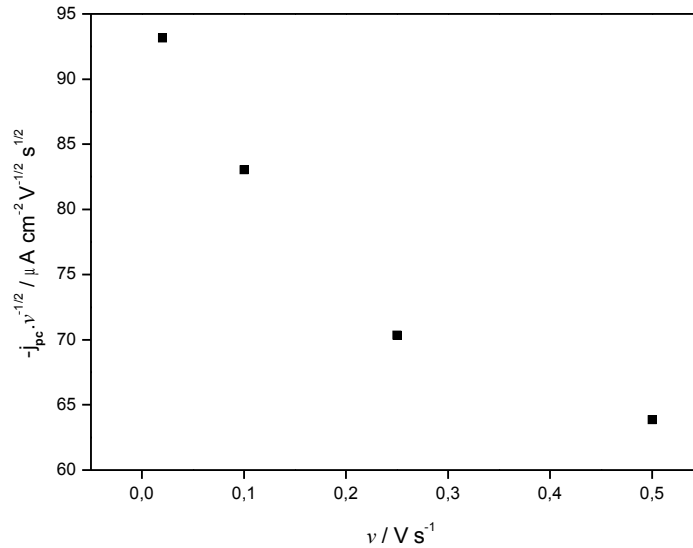


Figura 17. Variação do $j_{pc} \cdot v^{-1/2}$ em função de v para a sulfadiazina $1,33 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8.

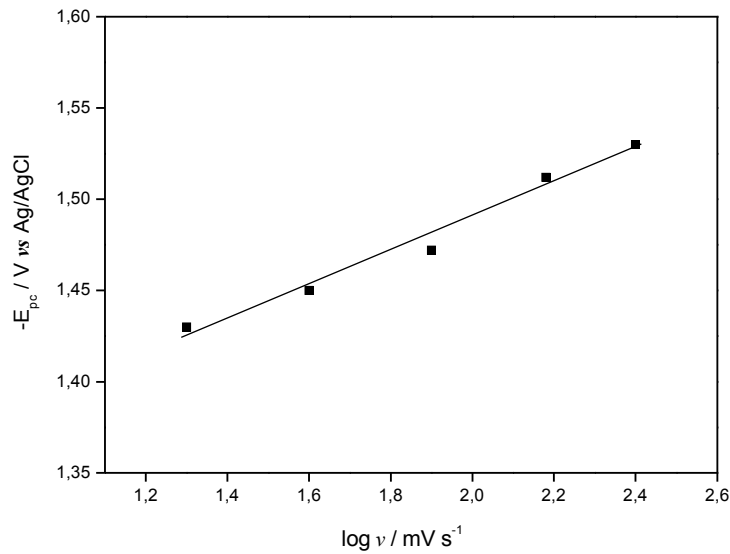


Figura 18. Variação do E_{pc} com o \log de v para a sulfadiazina $1,33 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8.

4.2.2 Influência da frequência de variação do potencial por voltametria de onda quadrada

O grupo de Osteryoung e o de Lovrié, utilizando modelos teóricos, desenvolveram a teoria da voltametria de onda quadrada onde é possível obter dados relacionados a cinética e mecanismos de reações químicas. O estudo da f além de melhorar a sensibilidade da técnica traz informações que possibilitam estimar o número de elétrons envolvidos na reação. Reações redox totalmente irreversíveis ou reversíveis, sem adsorção do produto, apresentam uma relação linear entre o E_p com o $\log f$, com uma inclinação de $0,0592 / \alpha n$ V por década onde α é o coeficiente de transferência eletrônica e n o número de mols de elétrons envolvidos na reação eletrodica. A figura 19 mostra os voltamogramas de onda quadrada da sulfadiazina $340 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 no intervalo de 5 a 200 Hz, com ΔE_s de 40 mV e ΔE_p de 5 mV. O gráfico do E_p vs $\log f$, inserção da figura 19, em uma década (5 a 100 Hz), apresentou comportamento linear e a equação de reta $E_p = 1,38 + 0,058 (\log \text{ de } f)$ de maneira que para um valor de $\alpha = 0,5$ é possível estimar que 2 mols de elétrons estão envolvidos na reação.

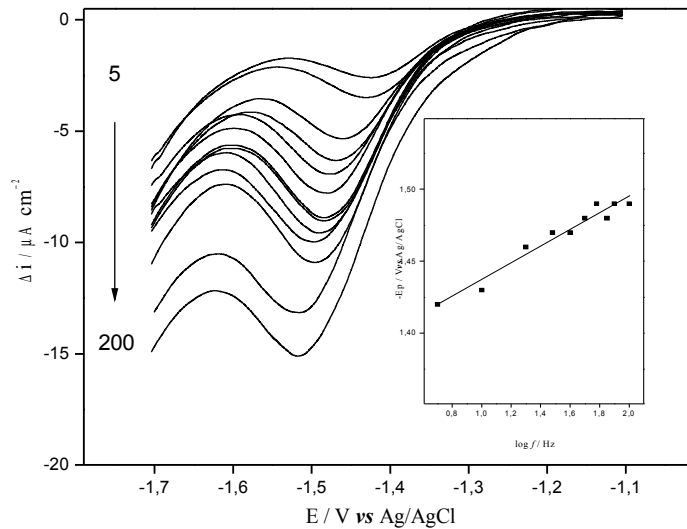


Figura 19. Voltamogramas de onda quadrada para a sulfadiazina $340 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 com as frequências de variação de potencial (f) de 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 100, 150 e 200 Hz ($\Delta E_s = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_p = 5 \text{ mV}$). Inserção: Dependência do E_p em função do $\log f$ de 5 a 100 Hz.

4.2.3 Proposta de mecanismo de redução da sulfadiazina

A partir das considerações feitas após avaliação dos critérios de diagnósticos obtidos por VC e VOQ, ou seja:

a) a caracterização de uma transferência de elétrons irreversível evidenciado no voltamograma cíclico (Figura 9) e pela relação linear encontrada entre o E_p e $\log v$ (Figura 18);

b) a presença de reação química acoplada a transferência de elétrons observado no comportamento da função densidade de corrente com o aumento da v (Figura 17);

c) a evidência da participação de íons H^+ na reação do eletrodo observado no deslocamento do E_{pc} com o aumento do pH (Figura 13) e a possibilidade de estimar a participação de um mol de íons H^+ na reação envolvendo a redução da sulfadiazina;

d) a estimativa do envolvimento de 2 mols de elétrons obtido a partir da relação linear encontrada entre E_p e o $\log f$ (Figura 19);

Foi possível a elaboração de um esquema mecanístico para a redução da sulfadiazina sobre a superfície do eletrodo de CV em tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 semelhante ao proposto por Cotrell e Mann⁴² e o apresentado por Ban e colaboradores⁴³ ambos sobre a superfície do eletrodo de Hg, conforme apresentado na figura 20, onde:

- i) na primeira etapa ocorre a formação do ânion radical sulfonamida (etapa eletroquímica).
- ii) na segunda etapa ocorre a protonação do ânion radical (etapa química).
- iii) na terceira etapa ocorre a formação do ânion sulfonamida (etapa eletroquímica).
- iv) na quarta etapa ocorre a clivagem do ânion sulfonamida formando uma amina e o íon sulfinato (etapa química)

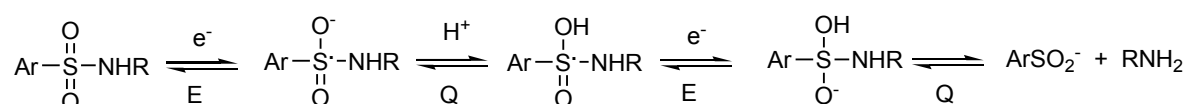


Figura 20. Esquema da redução da sulfadiazina no tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8.

4.3 Otimização dos parâmetros experimentais

Por mostrar-se uma técnica de maior sensibilidade já que minimiza o efeito da corrente capacitiva,³³ a voltametria de onda quadrada foi utilizada na otimização dos parâmetros experimentais como: influência do oxigênio no processo de redução da sulfadiazina, limpeza do eletrodo e solubilidade da sulfadiazina.

4.3.1 Influência do oxigênio

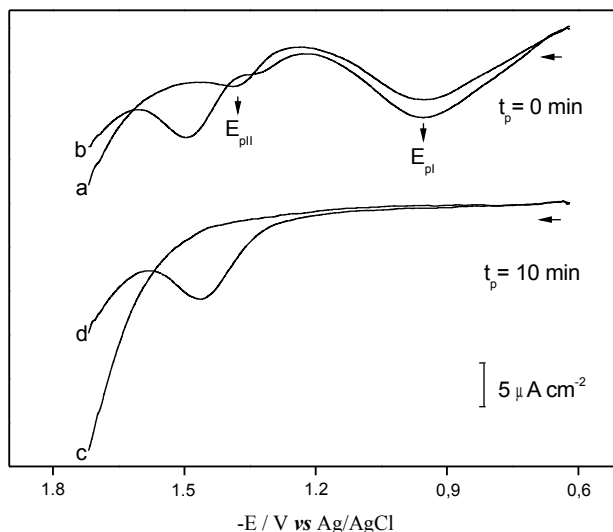
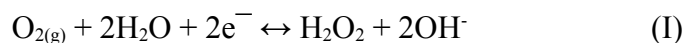


Figura 21. Voltamogramas de onda quadrada no tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 (a) antes e (c) após a desaeração com N_2 e sua influência na definição do pico de redução da sulfadiazina $279 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (b) antes, tempo de purga (t_p) zero, e (d) após a desaeração da célula eletroquímica, tempo de purga 10 min. ($f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$).

Os trabalhos envolvendo a redução da sulfadiazina sobre o eletrodo de mercúrio ou carbono vítreo modificado^{15,21-26} encontrados na literatura relatam a redução das sulfonamidas numa cela eletroquímica isenta de oxigênio. O voltamograma de onda quadrada do tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 obtido sobre a superfície do eletrodo de CV sem desaeração da cela, variando-se o potencial de $-0,60$ até $-1,70 \text{ V vs Ag/AgCl}$, apresentou dois picos de redução, o potencial de pico I (E_{pI}) em $-0,94 \text{ V}$ e o potencial de pico II (E_{pII}) em $-1,39 \text{ V}$, potenciais estes característicos da redução do O_2 (Figura 21). Em meio neutro ou alcalino, no E_{pI} ocorre a redução do oxigênio a peróxido sendo, em estágio subsequente, o oxigênio reduzido ao íon hidróxido, processo este, que envolve a transferência de 6 mols de elétrons conforme representado nas reações (I) e (II).^{31,44} Por ser inerte eletroquimicamente o N_2 foi borbulhado para desaerar o eletrólito suporte e a atmosfera da cela, num tempo de purga (t_p) otimizado em 10 minutos. O voltamograma de onda quadrada do tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 após a desaeração não apresenta os dois picos referentes a presença do O_2 melhorando portanto, a definição do pico de redução da sulfadiazina $279 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ viabilizando assim seu uso como sinal eletroanalítico.



A desaeração do sistema também foi adotado para os demais eletrólitos suporte utilizados neste ensaio eletroquímico antes da obtenção dos voltamogramas da sulfadiazina.

4.3.2 Limpeza do eletrodo

Como as reações eletroquímicas ocorrem na interface eletrodo-solução, a obtenção de superfícies reproduzíveis em todas as medidas possibilita voltamogramas com picos bem definidos e adequada reprodutibilidade, tornando a limpeza do eletrodo um importante critério a ser estudado. Neste trabalho dois procedimentos para a limpeza da superfície do eletrodo de carbono vítreo foram testados: o tratamento químico e o abrasivo³⁷. O voltamograma de onda quadrada de redução da sulfadiazina $279 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 obtido após o polimento do eletrodo em alumina $0,05 \mu\text{m}$, apresentou razoável definição de pico. Entretanto, após ser efetuada a limpeza do eletrodo aplicando-se 2 gotas de metanol, mantendo-se as mesmas condições, obteve-se um voltamograma com boa definição de pico (Figura 22) portanto, nos demais voltamogramas obtidos para a redução da sulfadiazina em tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 o procedimento químico para a limpeza do eletrodo de trabalho foi o adotado.

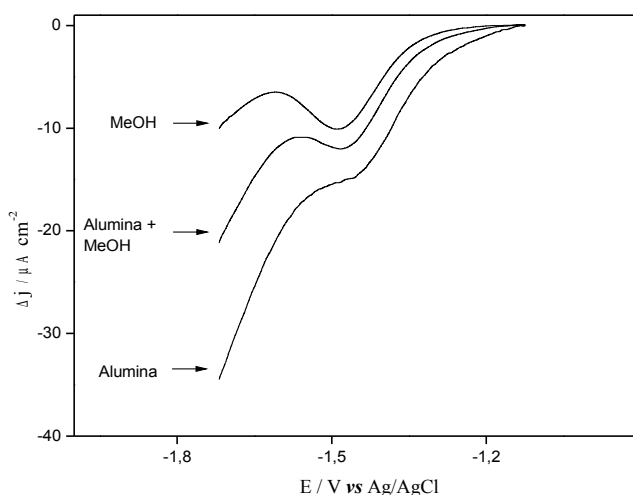


Figura 22. Influência da limpeza do eletrodo de carbono vítreo na densidade de corrente de pico e definição nos voltamogramas de onda quadrada da sulfadiazina $279 \mu\text{mol L}^{-1}$ em Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 ($f = 60 \text{ Hz}$, $ap = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$).

4.3.3 Solubilidade da sulfadiazina

A solubilidade da sulfadiazina foi observada em metanol e em metanol:tampão Britton-Robinson $0,04\text{mol L}^{-1}$ pH 6,8 nas proporções 1:1 e 4:1 v/v. A figura 23 mostra os voltamogramas da sulfadiazina, $188\ \mu\text{mol L}^{-1}$, solubilizada em MeOH e MeOH:BR nas proporções 1:1 e 4:1 v/v, sendo possível observar uma maior variação de densidade de corrente de pico (Δj_p), quando comparado com a sulfadiazina solubilizada apenas em MeOH e melhor definição de pico, quando comparada com MeOH:BR 1:1 v/v, para a sulfadiazina solubilizada em MeOH:BR 4:1 v/v, sendo este o procedimento utilizado no preparo do padrão de sulfadiazina em todo o trabalho.

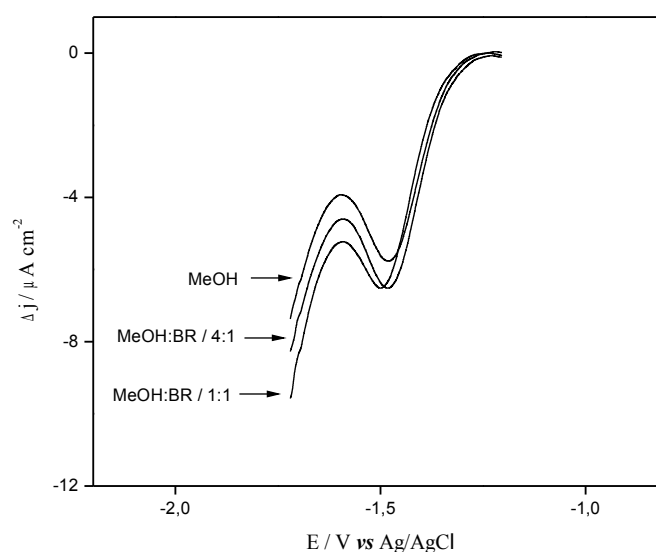


Figura 23. Voltamogramas de onda quadrada da sulfadiazina $188\ \mu\text{mol L}^{-1}$ para o padrão da sulfadiazina solubilizado em MeOH e MeOH:BR $0,04\ \text{mol L}^{-1}$ pH 6,8 nas proporções 4:1 e 1:1 v/v ($f = 60\ \text{Hz}$, $ap = 40\ \text{mV}$ e $\Delta Es = 5\ \text{mV}$).

4.4 Otimização dos parâmetros de voltametria de onda quadrada

Um critério de extrema importância durante o desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica é a otimização dos parâmetros de onda quadrada. A frequência de aplicação dos pulsos de potencial (f), o incremento de varredura de potencial (ΔEs) e a altura do pulso (ap) influenciam diretamente na resposta, em forma de Δj_p , obtida a partir do eletrodo. Portanto, a Δj_p e a sensibilidade do método podem ser melhoradas com o ajuste destes três parâmetros.

A influência da f na j_p para uma solução de sulfadiazina $340\ \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,04\ \text{mol L}^{-1}$ pH 6,8 no intervalo de 5 a 200 Hz, com ap de 40 mV e ΔEs de 5 mV foi

estudado sendo possível observar, figura 24, um aumento proporcional da j até 60 Hz ocorrendo em f superiores um aumento em escala reduzida portanto, a f de 60 Hz foi escolhida para dar continuidade aos estudos.

A variação da j_c em função do aumento do ΔE_s na faixa de 1 a 20 mV, nas mesmas condições experimentais, foi estudada obtendo-se um máximo de corrente de pico em 5mV com diminuição gradativa da mesma em valores de 10, 15 e 20 mV (Figura 25).

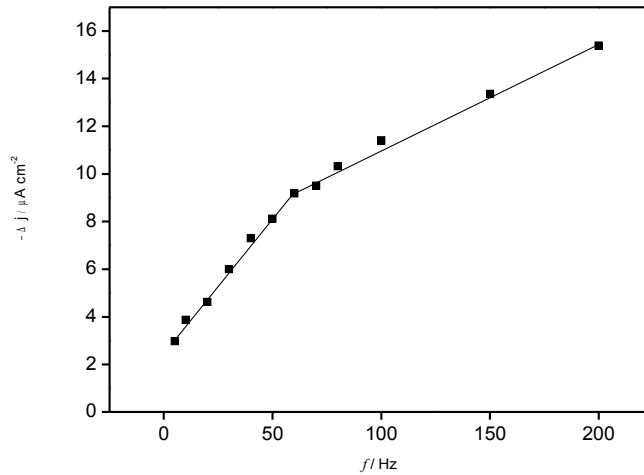


Figura 24. Dependência da variação da densidade de corrente de pico com a frequência de variação de potencial (f) para a sulfadiazina $340 \mu mol L^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,04 mol L^{-1}$ pH 6,8. ($\Delta p = 40 mV$ e $\Delta E_s = 5 mV$).

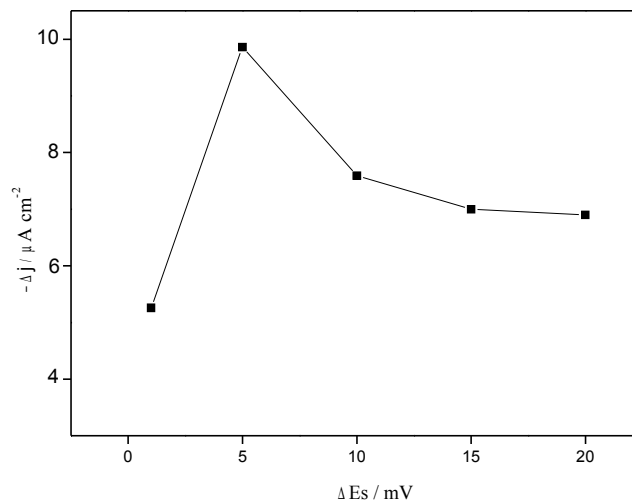


Figura 25. Dependência da variação da densidade de corrente de pico com o incremento de variação de potencial (ΔE_s) para a sulfadiazina $340 \mu mol L^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,04 mol L^{-1}$ pH 6,8. ($f = 60 Hz$ e $\Delta p = 40 mV$).

A influência da altura de pulso na faixa de 10 a 100 mV também foi avaliada nas mesmas condições experimentais, observando-se um aumento gradativo da corrente de pico até 40 mV mantendo-se, aproximadamente, constante em 50, 70 e 100 mV (Figura 26).

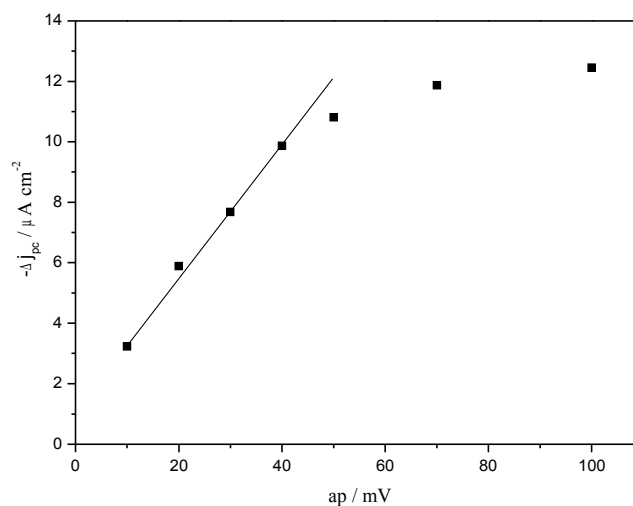


Figura 26. Dependência da variação da densidade de corrente de pico com a altura de pulso (ap) para a sulfadiazina $340 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($f = 60 \text{ Hz}$ e $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$).

De acordo com os estudos realizados, os parâmetros mais adequados para o desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica para determinação de sulfadiazina, pode ser encontrado na tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros experimentais otimizados para a análise da sulfadiazina.

Parâmetros	Valor escolhido
Tipo de tampão	Tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$
pH	6,8
Altura de pulso (mV)	40
Frequência (Hz)	60
Incremento de varredura (mV)	5

4.5 Curva analítica para a sulfadiazina

A curva analítica para a sulfadiazina foi construída após a otimização das condições experimentais obtendo-se os voltamogramas num intervalo de concentração de 62,7 até 340 $\mu\text{mol L}^{-1}$, figura 27, apresentando a Δj_p um aumento proporcional a concentração da sulfadiazina não demonstrando o E_p variação significativa com o aumento da concentração. A curva analítica, inserção da figura 25, mostrou linearidade em toda faixa de concentração estudada apresentando a equação da reta $\Delta j_p (\mu\text{A}) = 0,183 + 2,74 \times 10^4 [\text{sulfadiazina}] \text{ mol L}^{-1}$, com um $R = 0,9986$. O coeficiente angular com valor próximo a zero, reafirma a não adsorção da sulfadiazina sobre a superfície do eletrodo de trabalho podendo o mesmo estar relacionado as impurezas presentes no eletrólito suporte e a resistência do eletrodo em conduzir elétrons.

O limite de detecção (LD) traz informações à respeito da sensibilidade do método indicando a menor quantidade do analito presente na amostra capaz de ser detectado nas condições experimentais otimizadas e o limite de quantificação (LQ), indica a menor quantidade do analito presente na amostra que pode ser quantificado com precisão e exatidão aceitáveis nas condições experimentais otimizadas. O LD e LQ foram calculados a partir das seguintes relações:

$$\text{LD} = 3S_b/B \quad \text{eq. VI}$$

$$\text{LQ} = 10S_b/B \quad \text{eq. V}$$

Sendo S_b o desvio padrão do intercepto, B o coeficiente angular da curva analítica e 3 um fator de multiplicação que caracteriza um nível de confiança de 98%.^{31,45,46} O LD e LQ encontrados para a sulfadiazina foram de 10,9 e 36,28 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (2,73 e 9,08 mg L^{-1}), respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros da curva de calibração para a determinação da sulfadiazina.

Faixa de concentração ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	62,7 e 340
Intercepto ($\mu\text{A cm}^{-2}$)	0,183
S_b do intercepto ($\mu\text{A cm}^{-2}$)	$9,95 \times 10^{-2}$
Inclinação ($\mu\text{A cm}^{-2} \text{L } \mu\text{mol}^{-1}$)	0,0274
S_b da inclinação ($\mu\text{A cm}^{-2} \text{L } \mu\text{mol}^{-1}$)	$4,86 \times 10^{-4}$
R	0,9986
LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	10,9
LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	36,3

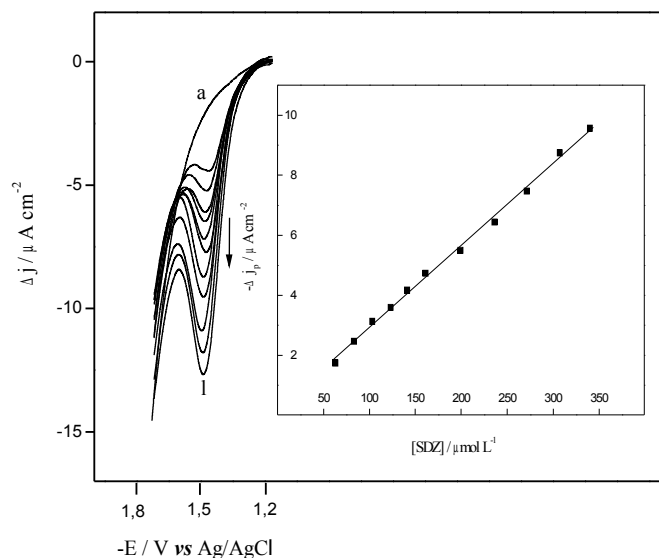


Figura 27. Voltamogramas de onda quadrada da sulfadiazina nas concentrações (a) branco, (b) 62,7, (c) 83,1, (d) 103, (e) 123, (f) 142, (g) 161, (h) 199, (i) 236, (j) 271, (k) 307 e (l) 340 μmol L⁻¹ em tampão Britton-Robinson 0,04 mol L⁻¹ pH 6,8 ($f = 60$ Hz, $ap = 40$ mV e $\Delta E_s = 5$ mV). Inserção: Dependência da Δj_p em função da concentração da sulfadiazina.

4.6 Estudo de repetibilidade

A repetibilidade, também denominada precisão intra corrida (realizadas em um período de 24 hs), expressa a concordância entre os resultados obtidos dentro de um curto espaço de tempo de uma mesma amostra, em diferentes preparações, com o mesmo procedimento, analista, instrumento e local.^{31,45,46}

O estudo da repetibilidade foi realizado através da medida da corrente de redução da sulfadiazina 310 μmol L⁻¹ em tampão Britton-Robinson 0,04 mol L⁻¹ sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo utilizando a voltametria de onda quadrada, em sete soluções diferentes. A Δj_p média encontrada foi de $8,83 \pm 0,04$ μA cm⁻² com um desvio padrão relativo (DPR) de 0,45% e $1,489 \pm 0,003$ V para a média do potencial de pico com DPR de 0,20% (Tabela 3). Os resultados obtidos no estudo da repetibilidade da redução da sulfadiazina sobre o eletrodo de carbono vítreo, viabilizaram a utilização da voltametria de onda quadrada para o desenvolvimento da metodologia eletroanalítica.

Tabela 3. Repetibilidade das variações de densidades de correntes de pico medidas no potencial de redução da sulfadiazina $310 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 com o eletrodo de carbono vítreo ($f = 60 \text{ Hz}$, $a_p = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$).

Replicatas	$\Delta j_p (\mu\text{A cm}^{-2})$	$E_p (\text{V})$
1	8,79	1,489
2	8,83	1,490
3	8,84	1,488
4	8,86	1,484
5	8,83	1,491
6	8,87	1,489
7	8,77	1,492
Média	$8,83 \pm 0,04$	$1,489 \pm 0,003$
DPR (%)	0,45	0,20

4.7 Determinação da sulfadiazina em formulações farmacêuticas

4.7.1 Determinação da sulfadiazina em formulações farmacêuticas por voltametria de onda quadrada

Empregando-se as melhores condições experimentais otimizadas (Tabela 1), a metodologia foi aplicada para a determinação da sulfadiazina nas formulações farmacêuticas Suladrin[®] e Sulfazina[®], através do método de adição de padrão conforme o procedimento relatado no item 3.6. Apesar de um pequeno deslocamento do E_p para valores menos negativos, comportamento observado tanto nos voltamogramas para a determinação da sulfadiazina no comprimido Suladrin[®] (Figura 28) quanto nos voltamogramas da Sulfazina[®] (Figura 29), e de acordo com o tratamento dos dados obtidos das determinações das formulações farmacêuticas, realizadas em triplicata, e representados na tabela 4, observa-se que os excipientes contidos na cápsula dos comprimidos não produziram efeito significativo interferente no sinal analítico obtendo-se um valor médio de $501,97 \pm 8,61 \text{ mg}$ e $495,35 \pm 5,41 \text{ mg}$ de sulfadiazina nos fármacos Suladrin[®] e Sulfazina[®], respectivamente.

Tabela 4. Resultados obtidos para a quantificação da sulfadiazina em amostras de comprimidos Suladrin[®] e Sulfazina[®].

Amostra	Valor rotulado mg	Valor encontrado mg	Media mg	Desvio padrão relativo %
Suladrin [®]	500	510,42	501,97 ± 8,61	1,71
		493,20		
		502,30		
Sulfazina [®]	500	501,60	495,35 ± 5,41	1,09
		492,33		
		492,12		

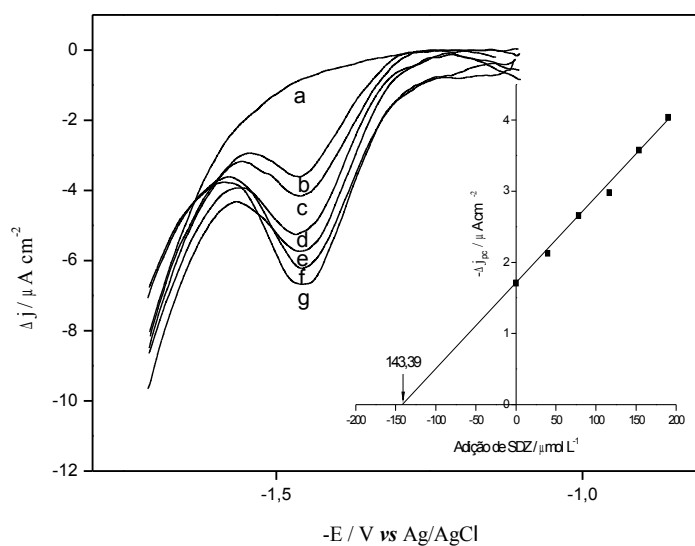


Figura 28. Voltamogramas de onda quadrada obtidos para determinação da sulfadiazina na formulação Suladrin[®]. (a) tampão Britton-Robinson 0,04 mol L⁻¹ pH 6,8; (b) adição de 350 μL da amostra contendo o fármaco; (c-g) adição de 100 μL do padrão da sulfadiazina ($f = 60 \text{ Hz}$, $ap = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$). Inserção: dependência da Δj_p em função da concentração da sulfadiazina para a adição de padrão.

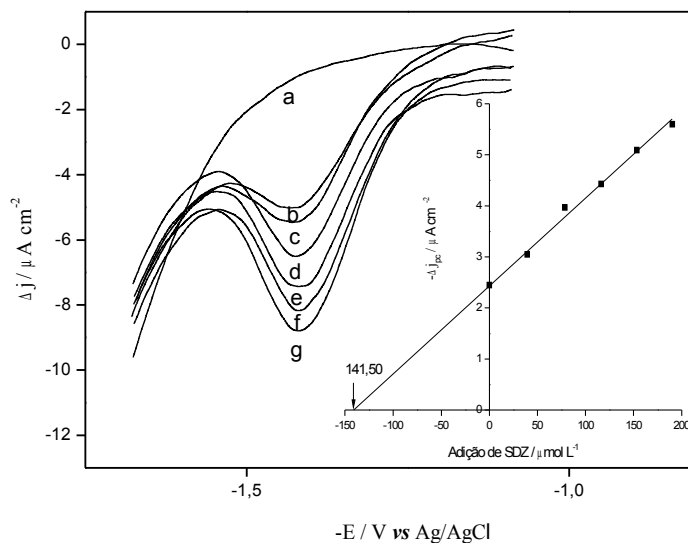


Figura 29. Voltamogramas de onda quadrada obtidos para determinação da sulfadiazina na formulação Sulfazina[®]. (a) tampão Britton-Robinson 0,04 mol L⁻¹ pH 6,8; (b) adição de 350 μL de amostra contendo o fármaco; (c-g) adição de 100μL do padrão da sulfadiazina ($f = 60$ Hz, $ap = 40$ mV e $\Delta Es = 5$ mV). Inserção: dependência da Δj_p em função da concentração da sulfadiazina para a adição de padrão.

4.7.1.1 Estudo de recuperação

O estudo da recuperação traz informações que podem ser relacionadas com possíveis interferentes presentes nas amostras das formulações farmacêuticas, influenciando os resultados do procedimento proposto. Este estudo foi realizado à partir dos voltamogramas de onda quadrada para a determinação de sulfadiazina nos fármacos Suladrin[®] e Sulfazina[®], realizados em triplicatas, e os resultados são mostrados na tabela 5. Os valores de recuperação variaram de 94,89 a 101,12% para as soluções contendo o fármaco Suladrin[®] e 95,76 a 104,52% para as soluções contendo a Sulfazina[®]. Estes valores indicam a não interferência da matriz na determinação de sulfadiazina pelo método proposto.

Tabela 5. Estudo da recuperação pelo método da adição do padrão*.

amostra	[SDZ] _{ad} (μmol L ⁻¹)	[SDZ] _{enc} (μmol L ⁻¹)	Recuperado (%)
Suladrin [®]	39,50	37,48	94,89
	78,23	78,29	100,07
	116,21	110,90	95,43
	153,46	154,66	100,78
	190,00	192,13	101,12
Sulfazina [®]	39,50	37,92	95,76
	78,23	81,77	104,52
	116,21	115,97	99,79
	153,46	153,01	99,71
	190,00	185,58	97,67

* n = 3

4.7.2 Determinação da sulfadiazina em formulações farmacêuticas pelo método oficial amperométrico

O método aqui proposto, pode ser validado utilizando um método oficial para comparar os resultados encontrados. O método oficial utilizado neste estudo foi a titulação da sulfadiazina tendo como agente titulante o nitrito, sendo, o ponto final determinado amperometricamente. A titulação amperométrica consiste basicamente na retirada do material de interesse em estudo através de sua interação com um reagente “o titulante” e o ponto final observado na variação da corrente existente entre os eletrodos de platina polarizados.⁴⁷⁻⁵⁰ A sulfadiazina, em meio ácido, na presença de nitrito sofre uma reação de diazotização⁵¹⁻⁵³ (Figura 30) até ser totalmente consumida do meio, em excesso, o nitrito adicionado é oxidado a nitrato nos eletrodos de platina polarizados, gerando um fluxo de elétrons que caracterizam o ponto final da titulação amperométrica.

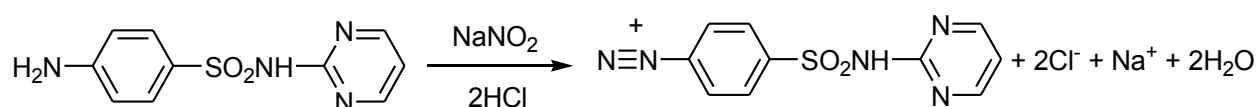


Figura 30. Esquema de reação de diazotização da sulfadiazina em meio ácido.

A titulação amperométrica foi realizada para a determinação da sulfadiazina nos fármacos Suladrin[®] e Sulfazina[®] de acordo com o procedimento descrito no item 3.7. O estudo foi realizado em triplicata e os dados obtidos são mostrados na tabela 6 encontrando-se um valor médio de $506,33 \pm 3,94$ mg e $494,18 \pm 2,54$ mg de sulfadiazina nas formulações farmacêuticas Suladrin[®] e Sulfazina[®], respectivamente.

Tabela 6. Resultados obtidos para a quantificação da sulfadiazina em amostras de comprimidos Suladrin[®] e Sulfazina[®].

Amostra	Valor rotulado mg	Valor encontrado mg	Media mg	Desvio padrão relativo %
Suladrin [®]	500	509,91	$506,33 \pm 3,94$	0,78
		506,97		
		502,10		
Sulfazina [®]	500	496,95	$494,18 \pm 2,54$	0,58
		493,65		
		491,95		

4.7.3 Tratamento estatístico

Afim de determinar a precisão, a exatidão e a confiabilidade dos resultados encontrados na determinação da sulfadiazina nos fármacos Suladrin[®] e Sulfazina[®], os valores encontrados foram tratados estatisticamente e são apresentados na tabela 7. O intervalo de confiança permite estimar a faixa na qual a média verdadeira poderá ser encontrada para um número pequeno de medidas. Utilizando dois graus de liberdade (n-1) o limite de confiança de 95% para a formulação Suladrin[®] foi $496,55 \pm 9,78$ mg e $501,97 \pm 21,37$ mg de sulfadiazina para o método oficial e o método desenvolvido, respectivamente, encontrando-se para a formulação Sulfazina[®] $494,18 \pm 6,3$ mg de sulfadiazina através do método oficial e $495,32 \pm 13,43$ mg de sulfadiazina com o método de voltametria de onda quadrada.^{31,47}

A precisão da metodologia desenvolvida foi verificada comparando os resultados encontrados na determinação da sulfadiazina por voltametria de onda quadrada com o valor de referência fornecido pelo fabricante das formulações farmacêuticas e os valores obtidos a partir do

método oficial. O teste t de student foi utilizado para comparar a média obtida nas determinações da sulfadiazina nos fármacos Suladrin[®] e Sulfazina[®] com o valor rotulado. Com 2 graus de liberdade, o valor t teórico é 4,30 sendo o valor de t calculado para a determinação da sulfadiazina na formulação Suladrin[®] 2,01 e 0,40 e para a Sulfazina[®] 2,98 e 1,49 ambos para o método oficial e o proposto neste estudo, respectivamente. O valores de t calculado menores que 4,30 indicam não haver diferença significativa entre os dois resultados quando comparados ao valor rotulado nem a existência de erros sistêmicos no procedimento de laboratório na determinação dos dois fármacos.^{31,45,47}

A precisão entre o método desenvolvido e o método oficial foi comparado aplicando-se o teste da razão da variância (teste F). Com dois graus de liberdade para ambos os métodos, o valor do F teórico indicando um nível de confiança de 95% é 19. O valor de F calculado para a formulação Suladrin[®] e Sulfazina[®] foram 4,78 e 4,54, respectivamente, indicando não haver diferença significativa entre as precisões dos métodos utilizado para a determinação da sulfadiazina em formulações farmacêuticas.^{31,47}

Tabela 7. Tratamento estatístico da determinação da sulfadiazina em formulações farmacêuticas.

	Suladrin [®]		Sulfazina [®]	
	Método oficial	VOQ	Método oficial	VOQ
Valor tabelado (mg)	500,00	500,00	500,00	500,00
Valor encontrado (mg) ^a	506,33 ± 3,94	501,97 ± 8,61	494,18 ± 2,54	495,32 ± 5,41
Desvio padrão relativo (%)	0,78	1,71	0,51	1,09
Er ₁ (%)	1,27	0,39	-1,16	-0,94
Er ₂ (%)	---	-0,86	---	0,23
Intervalo de confiança de 95% (mg)	496,55 – 516,11	480,60 – 523,34	487,88 – 500,48	481,89 – 508,75
t _{calculado} ^b	2,01	0,40	2,98	1,49
F _{calculado} ^c	4,78	4,78	4,54	4,54

^an = 3 ^bt_{teórico} = 4,30 ^cF_{teórico} = 19 Er₁ = erro relativo entre o valor encontrado e o valor rotulado Er₂ = erro relativo entre o valor encontrado por VOQ e o valor encontrado com o método oficial

O desvio padrão relativo em termos percentuais, chamado de coeficiente de variação, também é utilizado para relatar a precisão do método. Os valores de desvio padrão relativos

encontrados para os fármacos Suladrin[®] e Sulfazina[®] na ordem de 1,71% e 1,09%, respectivamente, confirmam a precisão do método de voltametria de onda quadrada para a determinação da sulfadiazina em fármacos.³¹

A exatidão indica quão próximo do valor verdadeiro está o valor encontrado pela metodologia proposta e pode ser expressa pelo erro relativo entre o valor encontrado e o valor tido como verdadeiro ou através da comparação do método proposto com o método oficial. O erro relativo entre o valor encontrado e o valor rotulado, Er_1 , foi de 0,39% e -0,94% para os fármacos Suladrin[®] e Sulfazina[®], respectivamente e o erro relativo entre o valor encontrado por voltametria de onda quadrada e o valor encontrado com o método oficial foi de -0,86% e 0,23% para os fármacos Suladrin[®] e Sulfazina[®], respectivamente, indicam boa exatidão do método de voltametria de onda quadrada para a determinação de sulfadiazina em formulações farmacêuticas.^{31,45-47}

5. CONCLUSÃO

Este trabalho descreve o comportamento eletroquímico da sulfadiazina e o desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica para sua determinação em formulações farmacêuticas. A redução da sulfadiazina sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo em tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8 apresentou um único pico em $-1,46 \text{ V vs Ag/AgCl}$ com características de um processo irreversível. Estudos da variação de pH e da velocidade de variação de potencial por voltametria cíclica e da variação da frequência por voltametria de onda quadrada caracterizaram o processo de redução da sulfadiazina como irreversível apresentando reação química acoplada a transferência de 2 mols de elétrons com a participação de um único íon H^+ sendo a etapa determinante, controlada por transporte de massa difusional.

Apresentando faixa linear entre $62,7$ e $340 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e limite de detecção de $10,9 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. O método aqui proposto apresentou boa repetibilidade com desvio padrão relativo de $0,45\%$ para a densidade de corrente de pico. O estudo de recuperação da sulfadiazina variou de $94,89\%$ a $104,52\%$ indicando a não interferência da matriz no método proposto. O teste da razão da variância (teste F) e o teste t student caracterizaram a técnica proposta como precisa. Um erro relativo de $0,39\%$ e $-0,94\%$ quando comparado a massa de sulfadiazina encontrada nos fármacos pelo método proposto com o valor rotulado e um erro relativo de $-0,86\%$ e $0,23\%$ comparando a massa de sulfadiazina encontrada pelo método proposto com o método oficial, indicam boa exatidão do método de voltametria de onda quadrada para a determinação de sulfadiazina na determinação de produtos farmacêuticos podendo o mesmo ser utilizado em análise de rotina como um método alternativo ao método oficial.

6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Munson, P.L.; Mueller, R.A.; Breese, G.R.; *Principles of Pharmacology: basic concepts and clinical applications*, Chapman & Hall, **1996**, 1289-1299.
2. *Drug Evaluations*, 6th ed., American Medical Association, **1986**, 1451-1467.
3. Katzung, B.G.; *Farmacologia Básica e Clínica*, Editora Guanabara Koogan S.A.; Rio de Janeiro, **1995**, 546-550.
4. Rang, H.P.; Dale, M.M.; Ritter, J.M.; *Farmacologia*, Editora Guanabara Koogan S.A.; Rio de Janeiro, **2001**, 578-579.
5. Korolkovas, A.; Burckhalter, J.H.; *Química Farmacêutica*, Editora Guanabara Koogan S.A.: Rio de Janeiro, **1988**, 547-559.
6. *United States Pharmacopeia National Formulary XXXIII*, USP Pharmacopeial Convention, Rockville, MD, **1995**, 1453-1454.
7. *British Pharmacopeia*, v. 1, Crown Copyright, United Kingdom, 1988, 544.
8. Prat, M.D.; Granados, N.; Compañó, R.; Folch, J.; Raich-Mountiu, J.; *Analysis of trace levels of sulfonamides in surface water and soil samples by liquid chromatography-fluorescence*. Journal of Chromatography A, 1172, **2007**, 186-193.
9. Conley, J.M.; Symes, S.J.; Kindelberger, S.A.; Richards, S.M.; *Rapid liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of a broad mixture of pharmaceuticals in surface water*. Journal of Chromatography A, 1185, **2008**, 206-215.
10. Göbel, A.; Thomsen, A.; McArdell, C.S.; Alder, A.C.; Giger, W.; Thieb, N.; Löffler, D.; Ternes, T.A.; *Extraction and determination of sulfonamides, macrolides and trimethoprim in sewage sludge*. Journal of Chromatography A, 1085, **2005**, 179-189.
11. Bass, Q.B.; Pereira, A.V.; *High-performance liquid chromatography method for the simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in bovine milk using an on-line clean-up column*. Journal of Chromatography B, 826, **2005**, 139-146.
12. Preechaworapun, A.; Chuanuwatanakul, S.; Einaga, Y.; Grudpan, K.; Motomizu, S.; Chailapakul, O.; *Electroanalysis of sulfonamides by flow injection system/high-performance liquid chromatography coupled with amperometric detection using boron-doped diamond electrode*. Talanta, 68, **2006**, 1726-1731.
13. Wang, S.; Zhabg, H.Y.; Wang, L.; Duan, Z.J.; Kennedy, I.; *Analysis of sulfonamides residues in edible animal products: A review*. Food additives and contaminants, 23, **2006**, 362-384.
14. Huang, X.; Yuan, D.; Huang, B.; *Simple and rapid determination of sulfonamides in milk using Ether-type column liquid chromatography*. Talanta, 72, **2007**, 1298-1301.

15. Msagati, T.A.M.; Ngila, J.C.; *Voltametric detection of sulfonamides at a poly(3-methylthiophene) electrode*. Talanta, 58, **2002**, 605-610.
16. Souza, C.D.; Braga, O.C.; Vieira, I.C.; Spinelli, A.; *Electroanalytical determination of sulfadiazine and sulfamethoxazole in pharmaceuticals using a boron-doped diamond electrode*. Sensors and Actuators B, 135, **2008**, 66-73.
17. Carrazon, J.M.P., Recio, A.D., Diez, L.M.P.; *Electroanalytical study of sulphadiazine at solid electrodes. Determination in pharmaceutical preparations*. Electrochimica Acta, 32, **1987**, 1573-1575.
18. Carrazon, J.M.P., Recio, A.D., Diez, L.M.P.; *Electroanalytical study of succinilsulfathiazole and phthalylsulfathiazole at a glassy carbon electrode*. Electroanalysis, 1, **1989**, 317-322.
19. Özkorucuklu, S.P.; Sahin, Y.; Alsancak, G.; *Voltametric behavior of sulfamethoxazole electropolymerized-molecularly imprinted overoxidized polypyrrole*. Sensors, 8, **2008**, 8463-8478.
20. Momberg, A.V.; Carrera, M.E.B.; Baer, D.V.; Bruhn, C.F.; Smyth, M.R.; *The oxidative voltammetric behaviour of some sulphonamides at the glassy carbon electrode*. Analytica Chimica Acta, 159, **1984**, 119-127.
21. Sabry, S.M.; *Polarographic and voltammetric assay of sulfonamides as α -oxo- γ -butyrolactone arylhydrazones*. Analytical Letters, 40, **2007**, 233-256.
22. Fogg, A.G.; Yussof, R.H.M.; Moreira, J. C.; Zhao, R.; *Cathodic stripping Voltammetric Determination of sulfonamides as copper (I) complexes at a hanging mercury drop electrode*. Analytical Proceedings Including Analytical Communications, 32, **1995**, 95-97.
23. Fogg, A.G.; Yussof, R.H.M.; Ahmad, R.; *Copper (II) interference by complexation in cathodic stripping voltammetry: accumulation of sulfachloropyridazine as its copper (I) complex to increase the sensitivity of its direct determination at a hanging mercury drop electrode and to overcome interference from copper (II)*. Analytical Proceedings Including Analytical Communications, 32, **1995**, 337-340.
24. Fogg, A.G.; Yussof, R.H.M.; Ahmad, R.; *Use of ethylenediaminetetraacetic acid as a pH buffer to prevent copper (II) interference by complexation in the cathodic stripping voltammetric determination of reducible organic compounds at a hanging mercury drop electrode: determination of sulfasalazine in the presence of sulfadimidine*. Analytical Proceedings Including Analytical Communications, 32, **1995**, 189-191.
25. Kotouček, M.; Skapolová, J.; Micháľková, D.; *Electroanalytical study of salazosulfapyridine and bisepitol components at the mercury electrode*. Analytica Chimica Acta, 353, **1997**, 61-69.
26. Diaz, T.G.; Cabanillas, A.G.; Valenzuela, M.I.A.; Salinas, F.; *Polarographic behavior of*

- sulfadiazine, sulfamerazine, sulfamethazine and their mixtures. Use of partial least squares in the resolution of the non-additive signals of these compounds.* Analyst, 121, **1996**, 547-552.
27. Abdulin, I.F.; Chernysheva, N.N.; Budnikov, G.K.; *Galvanostatic coulometric determination of aromatic amine derivatives in pharmaceutical preparations using electrochemically generated bromine.* Journal of Analytical Chemistry, 57, **2002**, 629-621.
28. Princeton Applied Research; *A review of techniques for electrochemical Analysis.* Application note E-4.
29. Mabbott, G.A.; *An introduction to cyclic voltametry,* Journal of Chemical Education, 60, **1983**, 697-701.
30. Kissinger, P.T.; Heineman, W.R.; *Cyclic voltametry.* Journal of Chemical Education, 60, **1983**, 702-706.
31. Skoog, D.A.; Holler, F.J.; Crouch, S.R.; *Fundamentos da Química Analítica.* Editora Pioneira Thonsom Learning, São Paulo, 8 ed., **2006**, 627-666, 84-162.
32. Princeton Applied Research; *Square wave voltammetry.* Application note S-7.
33. Souza, D.; Machado, S.A.S.; Avaca, L.A.; *Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos,* Química Nova, 26, **2003**, 81-89.
34. Morita, T.; Assumpção, R.M.V.; *Manual de Soluções, Reagentes e Solventes.* Editora Edgard Blücher LTDA, 2 ed, **1986**, 101-103, 106-109.
35. *British Pharmacopeia*, v. 2, Crown Copyright, United Kingdom, 1988, Appendix VIII C, A113.
36. Agostinho, S.M.L.; Villamil, R.F.V.; Neto, A.A.; Aranha, H.; *O eletrólito suporte e suas múltiplas funções em processos de eletrodo.* Química Nova, 27, **2004**, 813-817.
37. Bard J.A.; Faulkner L.R.; *Electrochemical Methods: fundamentals and application.* 2 ed. New York, John Wiley & Sons Inc, **2001**, 833 p.
38. Bott, A.W.; *Mass transport,* Current Separations, 14, **1996**, 104-109.
39. Ali, A. M. M.; *Electroanalytical studies of azo sulpha drugs. Application to novel heterocyclo-sulphonamide azo dye.* Analytical Letters, 26, **1993**, 1635-1647.
40. Baldwin, R.P.; Ravinchandran, K.; Johnson, R.K.; *A cyclic voltammetry experiment for the instrumental analysis laboratory.* Journal of Chemical Education, 61, **1984**, 820-823.
41. Nicholson, R. S.; Shain, I.; *Theory of stationary electrode polarography.* Analytical Chemistry, 36, **1964**, 706-723.
42. Cotrell, P.T.; Mann, C.K.; *Electrochemical reduction of arylsulfonamides.* Journal of the American Chemical Society, 93, **1971**, 3579-3583.
43. Oda, K.; Ohnuma, T.; Ban, Y.; *A facile removal of arenosulfonyl group by electrochemical*

- reduction of sulfonamides in a new cooperative system of anthracene and ascorbic acid: the control of crisscross annulation.* Journal of Organic Chemistry, 49, **1984**, 953-959.
44. Princeton Applied Research; *Deaeration...why and how.* Application note D-2.
45. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); Resolução RE nº 899. de 29/05/2003.
46. Ribani, M.; Bottoli, C.B.G.; Collins, C.H.; Jardim, I.C.S.F.; Melo, L.F.C.; *Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos.* Quimica Nova, 27, **2004**, 771-780.
47. Vogel, A.; *Análise Química Quantitativa.* Tradução de Julio Carlos Afonso; Paula Fernandes de Aguiar; Ricardo Bicca de Alencastro; Rio de Janeiro: LTC, 6º ed., **2002**, 505-509, 65-89.
48. Christian, G.D.; O'Reilly, J.E.; *Instrumental Analysis.* Editora Allan and Baron, 2 ed., **1986**, 90-93.
49. Ewing, G.W.; *Métodos Instrumentais de Análise Química.* Editora Edgar Blücher Ltda, São Paulo, v. 3, **1977**, 255-259.
50. Delahay, P.; *Analisis Instrumental,* Editora Paraninfo, Madrid, **1963**, 139-151.
51. Sreekumar, N.V.; Narayana, B.; Hegde, P.; Manjunatha, B.R.; Sarojini, B.K.; *Determination of nitrite by simple diazotization method.* Microchemical Journal, 74, **2003**, 27-32.
52. Miranda, K.M.; Espey, M.G.; Wink, D.A.; *A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite.* Nitric Oxide: Biology and Chemistry, 5, **2001**, 62-71.
53. Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S.; Wothers, P.; *Organic Chemistry.* Oxford University Press, New York, 596-600.