



FURG

Dissertação de Mestrado

***SCREENING* ELETROQUÍMICO EM ESTADO SÓLIDO
PARA IDENTIFICAÇÃO DE FÁRMACOS**

Flávio Roberto Sokal

PPGQTA

Rio Grande, RS - Brasil

2022

SCREENING ELETROQUÍMICO EM ESTADO SÓLIDO PARA IDENTIFICAÇÃO DE FÁRMACOS

por

FLÁVIO ROBERTO SOKAL

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental da Universidade Federal do Rio Grande (RS), como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA.

PPGQTA

Rio Grande, RS - Brasil

2022

Ficha Catalográfica

S683s Sokal, Flávio Roberto.

Screening eletroquímico em estado sólido para identificação de fármacos / Flávio Roberto Sokal. – 2022.

119 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental, Rio Grande/RS, 2022.

Orientadora: Dra. Daiane Dias.

Coorientadora: Dra. Géssica Domingos da Silveira.

1. Estado Sólido 2. Fármacos 3. Screening 4. VIMP
5. Voltametria I. Dias, Daiane II. Silveira, Géssica Domingos da
III. Título.

CDU 615

Catálogo na Fonte: Bibliotecário José Paulo dos Santos CRB 10/2344

Universidade Federal do Rio Grande
Escola de Química e Alimentos
Programa de Pós-Graduação em Química
Tecnológica e Ambiental

A Comissão Examinadora abaixo assinada aprova a dissertação de Mestrado

SCREENING ELETROQUÍMICO EM ESTADO SÓLIDO PARA IDENTIFICAÇÃO DE FÁRMACOS

elaborado por

FLÁVIO ROBERTO SOKAL

Como requisito para a obtenção do título de
Mestre em Química

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Daiane Dias (FURG - RS)

Prof. Dr. Leandro Machado de Carvalho (UFSC - RS)

Prof. Dr. Alex Fabiani Claro Flores (FURG - RS)

Rio Grande, 04 de abril de 2022.

AGRADECIMENTOS

Meu primeiro agradecimento vai para as duas pessoas mais especiais da minha vida, que sempre estiveram comigo, me amparando, me escutando e tornando minha caminhada até aqui possível. Estes que nunca mediram esforços para me dar o necessário para alcançar meus objetivos, e que sempre estão comigo não importa a dificuldade que eu passe. Obrigado por tornar esse mestrado realidade, obrigado por ser meu pai seu Carlos carinhosamente seu Carlinhos e obrigado por ser minha mãe dona Irene, ou simplesmente MÃE.

Agradeço à minha orientadora Prof. Dr^a. Daiane, por ter compartilhado seu conhecimento, por me permitir realizar esse trabalho, por sempre estar presente me orientando com perfeição e maestria e principalmente por nunca ter desistido de mim.

Meus agradecimentos também à minha coorientadora Dr^a. Géssica Domingos da Silveira, pelas diversas correções e várias reuniões nas quais compartilhou seu conhecimento e me escutou.

Agradeço aos professores Dr. Leandro Machado de Carvalho e Dr. Alex Fabiani Claro Flores, por terem compartilhado seu conhecimento e tempo para a banca de defesa deste trabalho de mestrado.

Á todos os meus colegas de laboratório, em especial, Leandro, Ana e Mônica, agradeço pelo conhecimento compartilhado, pela paciência, incentivo, apoio e ajuda que recebi durante todo o período que estive no LEEA.

Um muito obrigado a todos os meus amigos, em especial a Lainide e Leonardo, que estiveram comigo nessa caminhada e foram meus parceiros de salinha de pós, de trabalhos, obrigado por me escutarem, por trocar conhecimento, tornando esse processo mais tranquilo.

Á todos que de alguma forma contribuíram com este trabalho, minha formação ou minha caminhada, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

Título: *SCREENING* ELETROQUÍMICO EM ESTADO SÓLIDO PARA IDENTIFICAÇÃO DE FÁRMACOS

Autor: Flávio Roberto Sokal

Orientador: Prof. Dr. Daiane Dias

Coorientadora: Dr. Géssica Domingos da Silveira

Palavras-chave: estado sólido, fármacos, screening, VIMP, voltametria.

Este trabalho propõe quatro métodos de *screening* voltamétrico para identificação de fármacos, tais como cafeína, fenacetina, lidocaína, procaína e benzocaína. A proposição dos métodos baseou-se na utilização da técnica de voltametria de micropartículas imobilizadas (VIMP), que permite obter informações eletroquímicas dos sólidos, com mínima manipulação, utilizando pouco reagente e pouca quantidade de amostra. Para o desenvolvimento dos métodos foi utilizado como eletrodo de trabalho uma haste de grafite comercial de 2,0 mm. Os eletrólitos avaliados foram solução tampão acetato de sódio/ácido acético (pH 5), NaCl, HCl e H₂SO₄ na concentração de 0,1 mol/L⁻¹. As análises foram realizadas por voltametria de onda quadrada no sentido anódico e catódica possibilitando a identificação de todos os padrões dos fármacos em ambos eletrólitos. Ademais constatou-se que a solução tampão acetato de sódio em pH 5 foi o melhor eletrólito, uma vez que permitiu identificar todos os padrões dos fármacos no sentido catódico. Além disso, dos eletrólitos testados foi o único no qual identificou-se dois compostos de forma direta (procaína e lidocaína). A comprovação da funcionalidade do método foi feita mediante a análise de amostras manipuladas e comerciais de fármacos em pó analisados em solução tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 5. Estas revelaram que, a benzocaína quando misturada com outros compostos (lidocaína, procaína, fenacetina e cafeína) não é identificável. A procaína pode ser identificada em todas as amostras e a lidocaína só não é identificável quando misturada com fenacetina. A cafeína e a fenacetina puderam ser identificados facilmente nas amostras, uma vez que possuem picos bem definidos. Além disso, a cafeína foi facilmente identificável nas amostras

comerciais de paracetamol contendo cafeína e de capsulas de termogênico contendo cafeína pura, sugerindo que em amostras comerciais onde se faz necessário a identificação de apenas um composto, o método se mostrou extremamente eficiente. Entretanto, para formulações com misturas contendo três ou mais compostos estudados o método não apresentou bons resultados.

ABSTRACT

Title: SOLID STATE ELECTROCHEMICAL SCREENING FOR IDENTIFICAÇÃO OF DRUG COMPOUNDS

Author: Flávio Roberto Sokal

Advisor: Prof. Dr. Daiane Dias

Co-advisor: Dr. Géssica Domingos da Silveira

Keywords: solid state, drugs, screening, VIMP, voltammetry.

This work proposes four methods of voltammetric screening to identify drugs, such as caffeine, phenacetin, lidocaine, procaine and benzocaine. The proposal of the methods was based on the use of the voltammetry of immobilized microparticle (VIMP) technique, which allows to obtain electrochemical information from solids, with minimal manipulation, using few reagents and sample. For the development of the methods, a commercial graphite rod of 2.0 mm was used as a working electrode. The electrolytes evaluated were acetate buffer solution (pH 5), NaCl, HCl and H₂SO₄ at a concentration of 0.1 mol/L⁻¹. Analyzes were performed by square wave voltammetry in anodic and cathodic potential directions, enabling the identification of all drug patterns in the electrolytes. Furthermore, it was found that acetate buffer solution was the best electrolyte, since it allowed the identification of all synthetic drugs in the cathodic scan. In addition, it was the only electrolyte in which it was possible to directly identify two compounds, it procaine and lidocaine. Proof of the method's functionality was carried out by analyzing manipulated and commercial samples of powdered drugs analyzed in 0.1 mol L⁻¹ acetate buffer solution at pH 5. These revealed that benzocaine when mixed with other compounds (lidocaine, procaine, phenacetin and caffeine) is not identifiable. Procaine can be identified in all samples and lidocaine is only unidentifiable when mixed with phenacetin. Caffeine and phenacetin could be easily identified in the samples, since they have well-defined peaks. In addition, caffeine was easily identifiable in commercial samples of paracetamol containing caffeine and thermogenic capsules containing pure caffeine, suggesting that in commercial samples where it is necessary to identify only one compound, the method proved to be

extremely efficient. Thus, it is concluded that when the compounds studied here are mixed with three or more compounds, their identification is difficult

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Estrutura química da cafeína.....	24
Figura 2. Mecanismo de oxidação da cafeína.	26
Figura 3. Mecanismo para a redução da cafeína.	26
Figura 4. Estrutura química da Fenacetina.....	28
Figura 5. Esquema de reação envolvidas na oxirredução da fenacetina (A) em etanol (C) e N-acetil-p-benzoquinonaimina ou NAPQ (D), passando por um intermediário (B). Redução de NAPQI (D) a paracetamol (E) e transformação química de p-benzoquinona (H) passando pelos intermediários (F e G).	29
Figura 6. Estrutura química da lidocaína (A), procaína (B) e benzocaína (C)	31
Figura 7. Reação da oxidação da lidocaína	35
Figura 8. Mecanismo de oxidação da amida da lidocaína.....	36
Figura 9. Mecanismo de oxidação da Procaína.....	37
Figura 10. Possível mecanismo de oxidação da benzocaína.....	38
Figura 11. Representação esquemática da voltametria de onda quadrada. (a) Esquema de aplicação de potenciais e (b) resposta típica: $E_{st} \sim 2 \text{ mV}$, $t_{min} = 2 \text{ ms}$..	40
Figura 12. Desenho esquemático do sistema eletródico de três fases.....	42
Figura 13. Voltamogramas anódicos em estado sólido de (a) cafeína, (b) lidocaína, (c) procaína, (d) fenacetina e (e) benzocaína obtidos por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: $E_{inicial}: -0,8 \text{ V}$; $E_{final}: 1,7 \text{ V}$, $E_{step}: 4 \text{ mV}$, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV	49
Figura 14. Voltamogramas catódicos em estado sólido de (a) cafeína, (b) lidocaína, (c) procaína, (d) fenacetina e (e) benzocaína por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: $E_{inicial}: 1,7 \text{ V}$; $E_{final}: -0,8 \text{ V}$, $E_{step}: 4 \text{ mV}$, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV	51
Figura 15. Esquema do critério de diagnóstico para screening eletroquímico em estado sólido por SWV utilizando como eletrólito tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5).	54
Figura 16. Voltamogramas anódicos em estado sólido de (a) cafeína, (b) lidocaína, (c) procaína, (d) fenacetina e (e) benzocaína por SWV em NaCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Condições	

experimentais: $E_{inicial}$: -0,8 V; E_{final} : 1,7 V, E_{step} : 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.....	55
Figura 17. Voltamogramas catódicos em estado sólido de (a) cafeína, (b) lidocaína, (c) procaína, (d) fenacetina e (e) benzocaína por SWV em NaCl 0,1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: $E_{inicial}$: 1,7 V; E_{final} :-0,8 V, E_{step} : 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.....	58
Figura 18. Esquema do critério de diagnóstico para screening eletroquímico em estado sólido por SWV utilizando eletrólito NaCl 0,1 mol L ⁻¹	60
Figura 19. Voltamogramas anódicos em estado sólido de (a) cafeína, (b) lidocaína, (c) procaína, (d) fenacetina e (e) benzocaína por SWV em HCl 0,1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: $E_{inicial}$: -0,8 V; E_{final} : 1,7 V, E_{step} : 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.....	62
Figura 20. Voltamogramas catódicos em estado sólido de (a) cafeína, (b) lidocaína, (c) procaína, (d) fenacetina e (e) benzocaína por SWV em HCl 0,1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: $E_{inicial}$: 1,7 V; E_{final} :-0,8 V, E_{step} : 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.....	65
Figura 21. Esquema do critério de diagnóstico para screening eletroquímico em estado sólido por SWV utilizando eletrólito HCl 0,1 mol L ⁻¹	69
Figura 22. Voltamogramas anódicos em estado sólido de (a) cafeína, (b) lidocaína, (c) procaína, (d) fenacetina e (e) benzocaína por SWV em H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: $E_{inicial}$: -0,8 V; E_{final} : 1,7 V, E_{step} : 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.	70
Figura 23. Voltamogramas catódicos em estado sólido de (a) cafeína, (b) lidocaína, (c) procaína, (d) fenacetina e (e) benzocaína por SWV em H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: $E_{inicial}$: 1,7 V; E_{final} :-0,8 V , E_{step} : 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.	72
Figura 24. Esquema do critério de diagnóstico para screening eletroquímico em estado sólido por SWV utilizando eletrólito H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹	74
Figura 25. Voltamograma anódico da cafeína (a) antes e (b) após redução, obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: $E_{inicial}$: -0,8 V; E_{final} : 1,7 V, E_{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.....	76

Figura 26. Esquema de reação da oxidação da lidocaína, adaptado de Hansen e Dryhurst.....	77
Figura 27. Voltamograma catódico da cafeína (a) antes e (b) após oxidação obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: E _{inicial} : 1,7 V; E _{final} :-0,8 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.....	78
Figura 28. Possível mecanismo para a redução da cafeína.	79
Figura 29. Voltamograma anódico da fenacetina (a) antes e (b) após redução, obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: E _{inicial} : -0,8 V; E _{final} : 1,7 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.....	80
Figura 30. Esquema da reação de oxidação da fenacetina adaptado de Salles e colaboradores, 2016.....	81
Figura 31. Mecanismo de oxidação/redução eletroquímico do N-acetil-p-benzoquinonaimina (I) a paracetamol (II). Adaptado de Salles e colaboradores.	82
Figura 32. Voltamograma catódico da fenacetina (a) antes e (b) após oxidação obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: E _{inicial} : 1,7 V; E _{final} :-0,8 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.....	82
Figura 33. Voltamograma anódico da lidocaína (a) antes e (b) após redução, obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: E _{inicial} : -0,8 V; E _{final} : 1,7 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.....	83
Figura 34. Esquema de reação da oxidação da lidocaína, adaptado de Rahbar e colaboradores.....	84
Figura 35. Voltamograma catódico da lidocaína (a) antes e (b) após oxidação obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: E _{inicial} : 1,7 V; E _{final} :-0,8 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.....	86
Figura 36. Esquema ilustrativo da redução da molécula de lidocaína (adaptado a partir do mecanismo de redução da cocaína proposto por Castro e colaboradores.	87
Figura 37. Voltamograma anódico da procaína (a) antes e (b) após redução obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: E _{inicial} : -0,8 V; E _{final} : 1,7 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.....	88
Figura 38. Esquema de reação da oxidação da procaína.	89

Figura 39. Voltamograma catódico da procaína (a) antes e (b) após oxidação obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: E _{inicial} : 1,7 V; E _{final} : -0,8 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.....	90
Figura 40 Esquema ilustrativo da redução da molécula de procaína (adaptado a partir do mecanismo de redução da cocaína proposto por Castro e colaboradores.	91
Figura 41. Voltamograma anódico da benzocaína (a) antes e (b) após redução obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: E _{inicial} : -0,8 V; E _{final} : 1,7 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.....	92
Figura 42. Possível mecanismo de oxidação da benzocaína.....	93
Figura 43. Voltamograma catódico da benzocaína (a) antes e (b) após oxidação obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: E _{inicial} : 1,7 V; E _{final} : -0,8 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.	94
Figura 44. Esquema ilustrativo da redução da molécula de procaína (adaptado a partir do mecanismo de redução da cocaína proposto por Castro e colaboradores).	94
Figura 45. Voltamogramas anódicos da cafeína, (a) em estado sólido, (b) em solução, obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 5 em potencial de -0,8 a 1,7 V. Condições experimentais: E _{inicial} : -0,8 V; E _{final} : 1,7 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.	95
Figura 46. Voltamogramas catódicos em estado sólido (a) e em solução (b) da cafeína obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: E _{inicial} : 1,7 V; E _{final} : -0,8 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.	97
Figura 47. Voltamogramas anódicos da fenacetina, (a) em estado sólido e (b) em solução, obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: E _{inicial} : -0,8 V; E _{final} : 1,7 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.....	98
Figura 48. Voltamogramas catódicos da fenacetina, (a) em estado sólido e (b) em solução, obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: E _{inicial} : 1,7 V; E _{final} : -0,8 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.....	99
Figura 49. Voltamogramas anódicos da lidocaína, (a) em estado sólido e (b) em solução, obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 5. Condições	

experimentais: $E_{inicial}$: -0,8 V; E_{final} : 1,7 V, E_{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV..... 100

Figura 50. Voltamogramas catódicos da lidocaína, (a) em estado sólido e (b) em solução, obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: $E_{inicial}$: 1,7 V; E_{final} : -0,8 V, E_{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV..... 100

Figura 51. Voltamogramas anódicos da procaína (a) em estado sólido e (b) em solução, obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: $E_{inicial}$: -0,8 V; E_{final} : 1,7 V, E_{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV..... 101

Figura 52. Voltamogramas catódicos da procaína, (a) em estado sólido e (b) em solução, obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: $E_{inicial}$: 1,7 V; E_{final} : -0,8 V, E_{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV..... 102

Figura 53. Voltamogramas anódicos da benzocaína (a) em estado sólido e (b) em solução, obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: $E_{inicial}$: -0,8 V; E_{final} : 1,7 V, E_{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV..... 103

Figura 54. Voltamogramas catódicos da benzocaína (a) em estado sólido e (b) em solução, obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: $E_{inicial}$: 1,7 V; E_{final} : -0,8 V, E_{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV..... 104

Figura 55. Voltamogramas catódicos da (a) amostra 1 contendo lidocaína, procaína e benzocaína; (b) sobreposição do padrão de lidocaína e amostra 1 (a); (c) sobreposição do padrão de procaína e amostra 1 (a); (d) sobreposição do padrão de benzocaína e amostra 1(a) obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: $E_{inicial}$: 1,7 V; E_{final} : -0,8 V, E_{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV. 106

Figura 56. Voltamogramas catódicos da (a) amostra 2 contendo lidocaína, procaína, benzocaína e cafeína; (b) sobreposição do padrão de cafeína e amostra 2 (a); (c) sobreposição do padrão de lidocaína e amostra 2; (d) sobreposição do padrão de procaína e amostra 2 (a); (d) sobreposição do padrão de benzocaína e amostra 2 (a),

obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial}: 1,7 V; E_{final}: -0,8 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV. 107

Figura 57. Voltamogramas catódicos da (a) amostra 3 contendo lidocaína, procaína, benzocaína e fenacetina; (b) sobreposição do padrão de fenacetina e amostra 3 (a); (c) sobreposição do padrão de lidocaína e amostra 3 (a); (d) sobreposição do padrão de procaína e amostra 3 (a); (e) sobreposição do padrão de benzocaína e amostra 3 (a), obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial}: 1,7 V; E_{final}: -0,8 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV 109

Figura 58. Voltamogramas catódicos da amostra 4 (contendo paracetamol e cafeína) e padrão da cafeína (a); voltamogramas catódicos com zoom da região de interesse da amostra 4 contendo paracetamol mais cafeína e padrão da cafeína (b), obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial}: 1,7 V; E_{final}: -0,8 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV. 111

Figura 59. Voltamogramas catódicos da (a) amostra 6 (cápsula de cafeína) e (b) padrão da cafeína, obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial}: 1,7 V; E_{final}: -0,8 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV. 112

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Trabalhos encontrados na literatura com possíveis mecanismos de oxidação e redução para cafeína, fenacetina, procaína, lidocaína e benzocaína.	32
Tabela 2. Estrutura química dos compostos utilizados neste trabalho	44
Tabela 3. Potenciais de picos anódicos dos compostos em estado sólido em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 5.	50
Tabela 4. Potenciais de picos catódicos dos compostos em estado sólido em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ pH 5.	53
Tabela 5. Potenciais de picos anódicos dos compostos em estado sólido em NaCl 0,1 mol L ⁻¹	57
Tabela 6. Potenciais de picos catódicos dos compostos em estado sólido em NaCl 0,1 mol L ⁻¹	59
Tabela 7. Potenciais de picos anódicos dos compostos em estado sólido em HCl 0,1 mol L ⁻¹	64
Tabela 8. Potenciais de picos catódicos dos adulterantes em estado sólido em HCl 0,1 mol L ⁻¹	67
Tabela 9. Potenciais de picos anódicos dos compostos em estado sólido em H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹	71
Tabela 10. Potenciais de picos catódicos dos compostos em estado sólido em H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹	73

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1. ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária
2. IOM, Instituto de Medicina, do inglês *Institute of Medicine*
3. OMS, Organização Mundial da Saúde
4. SWV, voltametria de onda quadrada, do inglês *square wave voltammetry*
5. VIMP, voltametria de micropartículas imobilizadas, do inglês *voltammetry of immobilized microparticles*
6. GPE, eletrodo de grafite, do inglês *graphite pencil electrode*
7. GC, carbono vítreo
8. SCE, eletrodo saturado de calomelano
9. CV, voltametria cíclica do inglês *cyclic voltammetry*

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	5
RESUMO	6
ABSTRACT	8
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	10
LISTA DE TABELAS	16
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	17
1. INTRODUÇÃO	20
2. OBJETIVO	22
2.1. Objetivo Geral	22
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
3.1. Medicamentos falsificados	23
3.2. Cafeína	24
3.3. Fenacetina	27
3.4. Anestésicos: lidocaína, procaína e benzocaína	30
3.5. Voltametria	39
3.6. Voltametria de micropartículas imobilizadas (VIMP)	41
4. MATERIAIS E MÉTODOS	44
4.1. Reagentes, soluções e amostras	44
4.2. Instrumentação	46
4.3. Procedimento analítico	47
5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	48
5.1. Screening em estado sólido	48

5.1.1. Comparação entre as respostas voltamétricas dos compostos em diferentes tipos de eletrólitos.....	48
5.2. Avaliação das respostas voltamétricas dos compostos previamente oxidados e reduzidos	75
5.3. Análise em solução.....	95
5.3.1. Comparação das respostas voltamétricas dos compostos em estado sólido e em solução.....	95
6. ANÁLISES DAS AMOSTRAS	105
6.1. <i>Screening</i> em estado sólido de amostras de fármacos manipulado e de medicamentos comerciais	105
7. CONCLUSÃO	113
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	114

1. INTRODUÇÃO

Medicamentos de baixo padrão, ou “falsificados” são um problema global (IOM, 2013). O uso de medicamentos com desvio de qualidade pode resultar em pacientes que não recebem a quantidade necessária do princípio ativo e, conseqüentemente, suas enfermidades podem não estar sendo tratadas, ou até mesmo pode estar piorando o quadro clínico do paciente (IVAMA; HOFMEISTER; NORONHA, 2005).

São considerados medicamentos de baixo padrão, aqueles que de forma deliberada são fraudulentamente rotulados de forma incorreta, com relação à identificação (OMS, 2018). A falsificação pode incluir, produto com o princípio ativo incorreto, sem princípio ativo, com princípio ativo insuficiente ou com embalagem falsa (OMS, 2018).

Fármacos possuem diferentes propriedades químicas, diferentes efeitos farmacológicos e diferentes valores de mercado (IOM, 2013; ANVISA, 2020). Entretanto, existem fármacos que possuem propriedades químicas e farmacológicas muito semelhantes (OMS, 2018), mas com valor de mercado muito distinto. Essa diferença de preço pode ser um atrativo para possíveis falsificações.

Um exemplo da diferença de preço pode ser visto em drogas anestésicas, como procaína, benzocaína e lidocaína que possuem propriedades farmacológicas muito parecidas, mas com valor de mercado bem diferentes. No momento da redação deste trabalho, o custo para aquisição de 100 g de procaína, lidocaína e benzocaína eram de 580, 1298 e 232 reais, respectivamente preço esse de venda no *site* da Merck (MERCK KGAA, [s.d.]). Visto que a diferença de preço entre esses anestésicos é grande, a empresa de manipulação, pode formular um produto utilizando princípios ativos mais baratos, e vender a formulação como se contivesse o princípio ativo mais caro. Desta maneira a o controle de qualidade e verificação dos produtos e formulações comercializados pelos locais de manipulação merece atenção.

Atualmente os métodos mais utilizados para fazer a determinação de fármacos são os cromatográficos (CLAE/HPLC ou CG/G) (VLADISLAVIĆ *et al*, 2018). Entretanto, as técnicas eletroanalíticas, em destaque a voltametria, tem mostrado

resultados eficientes para a detecção de fármacos (GUPTA *et al.*, 2011). Os métodos voltamétricos em solução (analito se encontra solubilizado no eletrólito) oferecem vantagens como alta sensibilidade, seletividade e reprodutibilidade, baixo investimento e custo de manutenção, porém a desvantagem é a necessidade, na maioria dos casos, de trabalhosas preparações de amostra. (VLADISLAVIĆ *et al.*, 2018).

Buscando evitar ou minimizar a necessidade do preparo de amostra, a voltametria em estado sólido mostra-se uma alternativa viável/adequada (SILVEIRA *et al.*, 2020). A técnica conhecida como voltametria de micropartículas imobilizadas (VIMP, do inglês *voltammetry of immobilized microparticles*) tem se destacado, uma vez que permite analisar e extrair informações diretamente dos compostos ainda no seu estado original (sólido), de forma rápida e eficiente (SCHOLZ; SCHRÖDER; GULABOSKI, 2005).

Deste modo, considerando a possibilidade de adulterações/fraudes em formulações farmacológicas sólidas visando mais lucro, uma vez que há grande diferença de valores entre os princípios ativos, os métodos de *screening* voltamétrico se tornam úteis uma vez que buscam a caracterização dos picos que sejam específicos dos princípios ativos investigados (DURIGON *et al.*, 2020), permitindo identificar o que está sendo comercializado, de forma rápida e precisa com o mínimo de manuseio de amostra.

Neste sentido, o presente trabalho relata o desenvolvimento de um método de qualificação eletroquímico simples, barato, rápido e de fácil execução para o *screening* de amostras de formulações farmacêuticas contendo cafeína, lidocaína, procaína, fenacetina e benzocaína em estado sólido em quatro eletrólitos diferentes, solução acetato de sódio/ácido acético, será referido no texto como tampão acetato, NaCl, HCl e de H₂SO₄ ambos em concentração de 0,1 mol L⁻¹.

2. OBJETIVO

2.1. Objetivo Geral

Desenvolver um método de screening voltamétrico de fármacos em estado sólido utilizando micropartículas imobilizadas para aplicação em amostras de medicamentos manipulados e comerciais.

2.2. Objetivos específicos

- I) Avaliar o perfil eletroquímico de oxirredução em estado sólido para a cafeína, fenacetina, lidocaína, procaína e benzocaína;
- II) Avaliar o perfil eletroquímico dos fármacos, oxidados depois de serem previamente reduzidos e reduzidos depois de serem previamente oxidados;
- III) Avaliar o perfil eletroquímico em solução para cafeína, fenacetina, lidocaína, procaína e benzocaína;
- IV) Comparar os resultados eletroquímicos obtidos para os princípios ativos estudados em estado sólido com os resultados obtidos em solução visando identificar os picos genuinamente sólido-sólido ;
- V) Avaliar a aplicabilidade do método para screening em estado sólido para os fármacos estudados;
- VI) Propor o método de screening para identificação dos fármacos investigados em cada um dos eletrólitos investigados.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Medicamentos falsificados

A falsificação de produtos farmacológicos é uma prática antiga, e a principal motivação para tal é a obtenção de lucros (IOM, 2013). Medicamentos falsificados são aqueles deliberada e fraudulentamente rotulados de forma incorreta com relação à identificação e/ou fonte em produtos de marca quanto a genéricos, sendo que os mesmos podem incluir produtos com os princípios corretos ou incorretos, sem princípios ativos, com princípios ativos insuficientes ou com embalagem falsa (IVAMA; HOFMEISTER; NORONHA, 2005).

Alguns exemplos de tipos de medicamentos falsificados incluem produtos que não contêm nenhum dos princípios ativos especificados, apesar de declarados no rótulo; produtos que contêm outros princípios ativos que não os especificados em seus rótulos; produtos que contêm a quantidade correta dos princípios ativos especificados, mas cuja fonte é diferente da que foi declarada; produtos que contêm os princípios ativos especificados, mas em quantidade diferente da que foi declarada; podem também conter diferentes impurezas e quantidades diversas das mesmas (PALMA *et al.*, 2013)

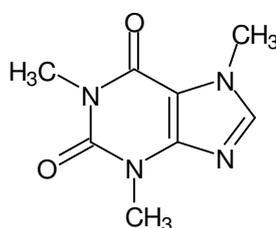
Adultrações com cafeína, fenacetina, lidocaína, procaína e benzocaína apesar de pouco divulgadas são uma prática comum (BRUNT; NIESINK, 2011; GHASEMI *et al.*, 2018; HEALTH; BOX; UTRECHT, 2016; PAULA *et al.*, 2014). A cafeína por exemplo, pode se tornar um problema em suplementos, principalmente quando o consumidor não sabe que o está ingerindo, uma vez que, apesar da cafeína ser uma substância corriqueiramente consumida se o rótulo não informa que contêm cafeína, é bem provável que o consumidor ingira mais que a dose diária recomendada (GOMPERTZ, 2019). Também é conhecido que cafeína, fenacetina, lidocaína, procaína e benzocaína são alguns dos fármacos mais utilizados para adultração de diversas drogas (CORRÊA; SABINO; GUANABARA, 2013; JONG *et al.*, 2016). Desta maneira,

desenvolvimento de métodos capazes de identificar esses fármacos são de grande valia.

3.2. Cafeína

A cafeína também conhecida como 1,3,7-trimetilxantina ou 1,3,7-trimetil-1H-purina-2,6 (3H, 7H)-diona (Figura 1) possui estrutura contendo um anel pirimidinodiona e um anel imidazol (PANDOLFI *et al.*, 2018). A cafeína pertence à família das purinas e é um dos alcalóides mais consumidos e está presente principalmente em bebidas. Apesar de ter sido inicialmente isolado em 1919 por Friedlib Ferdinand Runge (RUNGE, 1820), bebidas com cafeína há muito tempo já eram consumidas a fim de reduzir o cansaço e ajudar a manter as pessoas acordadas (NEHLIG; DAVAL; DEBRY, 1992).

Figura 1- Estrutura química da cafeína



A cafeína é muito solúvel em água (a 25 °C cerca de 111 mmol L⁻¹ por possuir os oxigênios e nitrogênios amina e iminas como sítios receptores de ligações de hidrogênio, que facilitam as interações com a água) porém é também suficientemente lipossolúvel, possuindo similaridade com a estrutura de adenosina, podendo passar facilmente pela barreira hematoencefálica agindo como antagonista do receptor de adenosina causando efeito estimulante (DUNWIDDIE; MASINO, 2001). Os efeitos adversos associados ao consumo demasiado de cafeína incluem dores de cabeça,

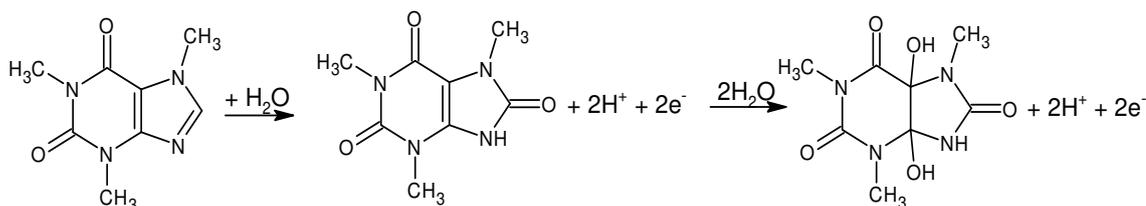
fadiga, letargia e abstinência (IJSELUIDEN; FADEN, 1992; SILVERMAN; GRIFFITHS, 2015).

Além desses efeitos causados pelo consumo da cafeína, ela pode atuar como antioxidante dependendo da concentração (VIGNOLI; BASSOLI; BENASSI, 2011). No estudo de Brezová e colaboradores comprovou-se que a cafeína é um ótimo eliminador de radicais hidroxila (OH^*) (BREZOVÁ; ŠLEBODOVÁ; STAŠKO, 2009). Essas propriedades antioxidantes também podem ser aplicadas a tratamentos de Alzheimer (ROSSO; MOSSEY; LIPPA, 2008)

A investigação eletroquímica da cafeína foi realizada inicialmente por Hansen e Dryhurst simulando a oxidação da cafeína no corpo humano (HANSEN; DRYHURST, 1971). Descobriu-se que o processo de oxidação envolve quatro e^- e quatro H^+ sendo esse um processo irreversível. A oxidação inicia nas ligações C8 e N9 por dois e^- e dois H^+ formando o ácido úrico metilado (ácido 1,3,7- trimetilúrico), seguido por outros dois e^- e dois H^+ oxidando a ligação C4 e C5 formando o intermediário ácido úrico-4, 5-diol (HANSEN; DRYHURST, 1971), como mostrado na Figura 2.

Além deste, outros trabalhos já relataram a oxidação da cafeína na mesma região (TASSINARY *et al.*, 2011), realizando a oxidação em solução *in-situ* com auxílio de radicais como hidroxila (OH^*) (TELO; VIEIRA, 1997) e fosfato (PO_4^{2-}) (KUMAR; ADINARAYANA, 2000). O potencial de pico de oxidação na voltametria cíclica (CV) para a cafeína é normalmente em torno de +1,4 V (vs SCE e em solução de tampão acetato pH 4,7) mas isso pode variar dependendo das condições de determinação utilizados (HANSEN; DRYHURST, 1971)

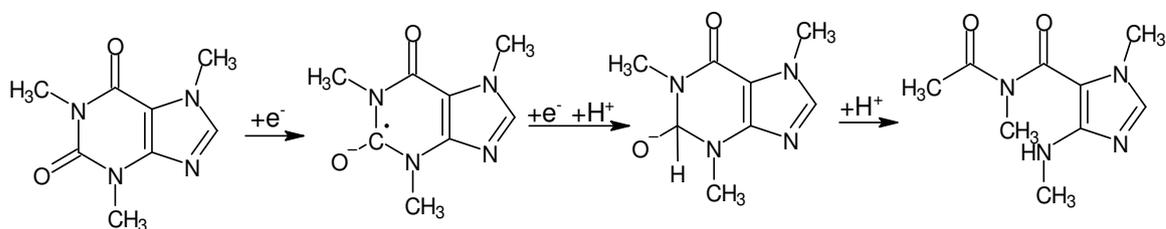
Figura 2- Mecanismo de oxidação da cafeína.



Fonte: HANSEN; DRYHURST, 1971

A redução da cafeína é uma abordagem menos estudada, mas recentemente esse processo foi proposto por Pandolfi em dois trabalhos. No primeiro se tratou da redução do iodeto de 9-metilcafeíneo (1,3,7,9-tetrametil-2,6-dioxo-2,3,6,9-tetrahydro-1H-purin-7-ilo iodeto) também conhecido como sal de cafeína, gerando como produto da redução uma uracila substituída (himeniacidina) derivada da hidrólise do carbeno N-heterocíclico (PANDOLFI *et al.*, 2018). No segundo trabalho foi tratado a redução da cafeína (1,3,7-trimetil-1H-purina-2,6 (3H, 7H)-diona) na forma neutra, concluindo que a redução catódica da cafeína levou à abertura do anel de pirimidinodiona com a formação de um produto formilado no átomo de nitrogênio da amida (Figura 3), sendo que o pico principal de redução obtido pelos autores foi próximo a 2,5 V (*vs* SCE) por voltametrias cíclicas em 0,1 mol L⁻¹ NaClO₄ utilizando como eletrodo de trabalho carbono vítreo (GC do inglês *Glassy Carbon*) (PANDOLFI *et al.*, 2019).

Figura 3- Mecanismo para a redução da cafeína.



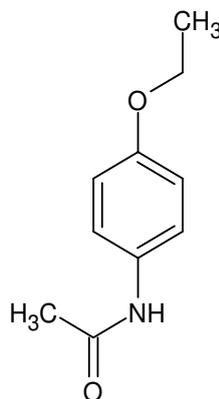
Fonte: PANDOLFI *et al.*, 2019

Por fim a redução da cafeína é oposta à do sal de cafeína uma vez que leva a abertura do anel de pirimidinodiona ou a abertura do anel de imidazol respectivamente, tornando a metodologia eletroquímica adequada para obter, em uma ou duas etapas, um uracil substituído com amino ou um imidazol substituído com amino a partir da mesma molécula cafeína (PANDOLFI *et al.*, 2018; PANDOLFI *et al.*, 2019)

3.3. Fenacetina

A fenacetina também é conhecida como N-(4-etoxifenil) acetamida ($C_{10}H_{13}NO_2$) representado na Figura 4. Pouco solúvel em água (766 mg/L a 25 °C), é um analgésico e antipirético e foi um dos primeiros analgésicos que não foi derivado do ópio, sendo a primeira droga farmacêutica sintética do mundo, desenvolvida em 1878 pelo químico americano, Harmon Northrop Morse (GAD, 2014). Foi introduzida ao mercado farmacêutico em 1887 e retirada em 1983 devido potencial risco de tumorigenicidade, entretanto apesar de proibida, a fenacetina é um componente em baixa concentração em formulações de aspirina e cafeína em alguns países (GAD, 2014). O efeito deletério característico da fenacetina no corpo humano é a necrose papilar renal, levando à insuficiência renal progressiva, podendo causar câncer de pelve renal (MCCREDIE *et al.*, 1986). No Brasil o comércio de fenacetina como medicamento foi proibido na década de 90 (OPAS/OMS, 2005).

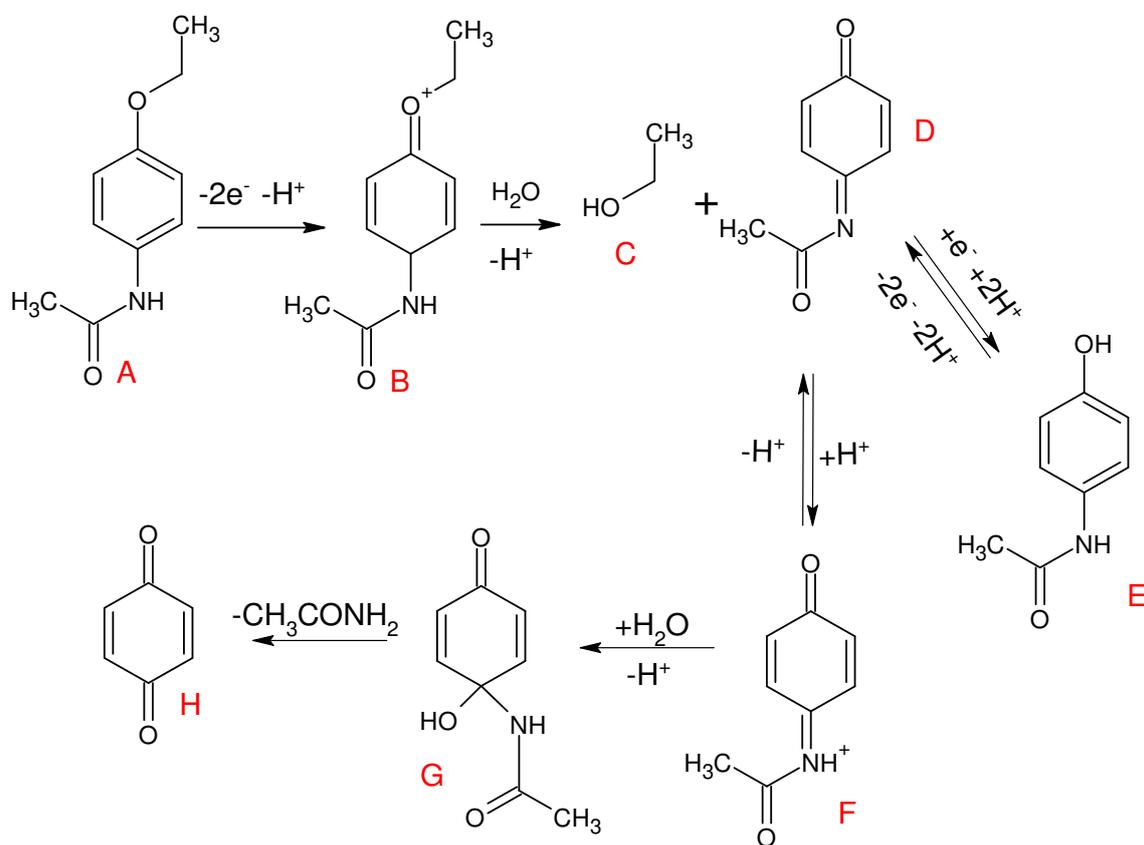
Figura 4- Estrutura química da Fenacetina



Até no momento diversas técnicas já foram utilizadas para determinar fenacetina, tais como cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) (FLOREY, 1984) e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS) (MURRAY; BOOBIS, 1991). No entanto a molécula de fenacetina possui um grupo imino ligado ao anel benzênico o que permite que a molécula seja identificada por técnicas eletroquímicas (YIN *et al.*, 2012). O primeiro trabalho que caracterizou os picos oxidativos da fenacetina em solução só foi publicado em 2012 por Yin e colaboradores, onde os autores produziram um eletrodo de carbono vítreo modificado por microesferas de cádmio e selênio (YIN; CHEN; AI, 2012). Em 2014, Zhang e colaboradores utilizaram nanotubos de carbono como modificador de eletrodo também para identificar fenacetina (ZHANG *et al.*, 2014).

O mecanismo de oxidação da fenacetina em solução envolve vários processos com formação de intermediários (representado na Figura 5). O mecanismo redox estudado por voltametria cíclica inicia com a oxidação da fenacetina (A) a N-acetil-p-benzoquinonaimina (D) que a partir daqui será chamado de NAPQI, sendo que essa oxidação ocorre em mais de uma etapa. Primeiro um intermediário é formado (B) através da reação eletroquímica, em seguida sofre um ataque do nucleófilo e forma o NAPQI. A NAPQI pode sofrer duas reações na primeira uma reação eletroquímica em que ele é reduzido a paracetamol (E) é uma reação eletroquímica levando a formação de p-benzoquinona (H) (SALLES; ARAUJO; PAIXÃO, 2016; BUSSY *et al.*, 2013b; BUSSY *et al.*, 2013a).

Figura 5- Esquema de reação envolvidas na oxirredução da fenacetina (A) em etanol (C) e N-acetil-p-benzoquinonaimina ou NAPQI (D), passando por um intermediário (B). Redução de NAPQI (D) a paracetamol (E) e transformação química de p-benzoquinona (H) passando pelos intermediários (F e G).



Fonte: SALLES; ARAUJO; PAIXÃO, 2016

A redução eletroquímica da fenacetina até o momento da escrita desse trabalho e até onde sabemos foi pouco relatada na literatura. O que sabemos é que o comportamento redutivo da fenacetina se assemelha com o paracetamol (ÖZCAN; ŞAHIN, 2011). Segundo os autores, o processo redox do paracetamol é reversível e nos estudos realizados por Ozcan (ÖZCAN; ŞAHIN, 2011) quando é variado a varredura de potencial da direção catódica para a anódica e na direção anódica para a catódica os mesmos picos foram observados para CV. Assim por CV, o potencial é variado primeiro no sentido anódico e o paracetamol é oxidado na superfície do eletrodo formando NAPQI, quando a varredura retorna no sentido catódico a NAPQI

recém formada se reduz formando paracetamol, desta maneira essa reação é reversível. Por fim o pico de redução obtido está relacionado com a redução do NAPQI, ao mesmo tempo parte desta molécula é absorvida e convertida em p-benzoquinonaimina e acetato pela reação química com água (ÖZCAN; ŞAHIN, 2011). O potencial de pico para redução do N-acetil-p-benzo-quinona imina a paracetamol pode ser visto na Tabela 2.

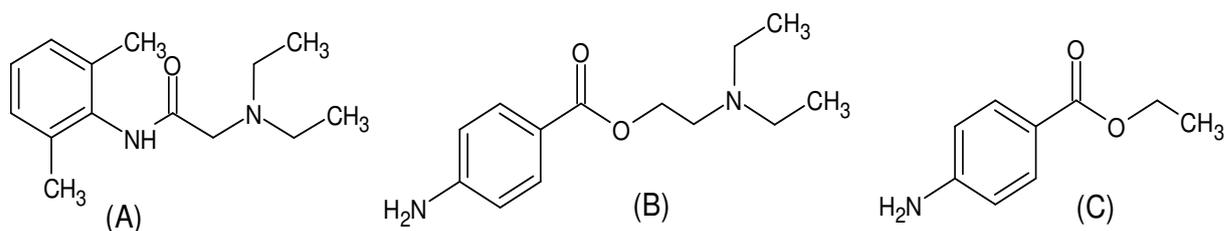
3.4. Anestésicos: lidocaína, procaína e benzocaína

A lidocaína ou 2- (dietilamino) – N- (2, 6-dimetilfenil) -acetamida representada na Figura 6A, é muito solúvel em água ($59,3 \text{ g L}^{-1}$), pertence a um grupo de amidas aromáticas amplamente utilizadas como anestésico local e também possui pronunciado efeito antiarrítmico e anticonvulsivante (RAHBAR; RAMEZANI; BABAPOUR, 2015).

Procaína também conhecida por novocaína ou 4-aminobenzoato de 2- (dietilamino)etila (Figura 6B), solúvel em água ($6,81 \text{ g L}^{-1}$), é um anestésico injetável que foi sintetizado em 1905 pelo químico Alfred EINHARDT Baker, possui rápida ação, apresenta baixa toxicidade e é usada em anestesia espinhal, agindo como bloqueador dos canais de cálcio (BROWN, 2012).

A benzocaína ou aminobenzoato de etila (Figura 6C), pouco solúvel em água (em torno de $0,4 \text{ g L}^{-1}$), também é um anestésico local, foi sintetizada pela primeira vez em 1890 pelo químico alemão Eduard RITZERT, é usada como componente para uso tópico, em cremes, na forma de pó seco para úlceras de pele, como pastilhas para garganta e em formulações para dentição para crianças, no entanto pode causar alguns efeitos colaterais como dermatite, urticária, ardor e ardência angioedema e metemoglobinemia (PYSAREVSKA *et al.*, 2018).

Figura 6- Estrutura química da lidocaína (A), procaína (B) e benzocaína (C)



A estrutura dos anestésicos previamente apresentados e representados na Figura 6, consiste em 3 partes: anel de benzeno aromático lipofílico, amina terciária hidrofílica e um uma cadeia conectada às duas primeiras partes. No caso da procaína e benzocaína são cadeias do tipo éster e na lidocaína cadeia do tipo amida (PYSAREVSKA; PLOTYCYA; DUBENSKA, 2021)

A determinação destes anestésicos já foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)(BANICERU; MANDA; POPESCU, 2011), espectrometria de massas (BANICERU; MANDA; POPESCU, 2011). Entretanto, os métodos voltamétricos também têm sido empregados para determinação destes anestésicos, mostrando-se promissores, uma vez que atendem os requisitos de seletividade, confiabilidade, atendendo também os princípios da química verde química verde, uma vez que podem reduzir em grande parte o consumo de reagentes, simplificando o pré-tratamento de amostra, reduzindo o tempo de detecção (PYSAREVSKA; PLOTYCYA; DUBENSKA, 2021).

A grande maioria dos trabalhos eletroquímicos presentes na literatura para detecção dos anestésicos aqui estudados se baseiam na oxidação em solução como pode ser visto na Tabela 1. No entanto o mecanismo exato de oxidação para lidocaína, procaína e benzocaína não foi totalmente elucidado, principalmente devido a complexidade da estrutura destes anestésicos, os quais possuem vários grupos eletroativos em sua estrutura, como as aminas, amidas, éteres e aromáticos). (PYSAREVSKA; PLOTYCYA; DUBENSKA, 2021).

Tabela 1- Trabalhos encontrados na literatura com possíveis mecanismos de oxidação para cafeína, fenacetina, procaína, lidocaína e benzocaína.

Região eletroativa	Composto em que a estrutura está presente	Potencial de pico (V)	Eletrodo de trabalho	Eletrólito	Referência
Oxidação de -N ₉ = C ₈ - (amina secundária) e -C ₄ = C ₅ - em anel pirimidinodiona	Cafeína	1,5	PIGE	Solução tampão acetato 1 mol L ⁻¹ (pH 4.7)	HANSEN; DRYHURST, 1971
		1,1	Platina	Hidrogel	TASSINARY <i>et al.</i> , 2011
Oxidação de etila (Oxidação da fenacetina e N-acetil-p-benzoquinona imina)	Fenacetina	1,1	GCE/MIP	Solução de HClO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ em 1: 1 (v / v) água / etanol	SALLES; ARAUJO; PAIXÃO, 2016
		0,8	EPC	Solução de nitrato de potássio 1 mol L ⁻¹ (pH 10)	RAHBAR; RAMEZANI; GHANAVATI, 2016
Amina Terciária	Lidocaína	-0,01	GCE/Cu ₂ V ₂ O ₇	Solução tampão fosfato salino 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7.4)	SIVAKUMAR <i>et al.</i> , 2014
Amida aromática		0,77 e 0,84	MIP	Solução tampão fosfato salino 0.1 mol L ⁻¹ (pH 7.5)	YANG; ZHAO, 2014

Amina primária	Benzocaína	1,0	DDB	Solução tampão Britton-Robinson 0,2 mol L ⁻¹ (pH 4.0)	PYSAREVSKA <i>et al.</i> , 2018
		0,4	EPC/p-cloranil	Solução tampão Britton-Robinson 0,5 mol L ⁻¹ (pH 1.0)	KACHOOSANGI; WILDGOOSE; COMPTON, 2008
	0,8	SPCE	Solução de acetato de sódio 0,1 mol L ⁻¹ (pH 6)	BERGAMINI <i>et al.</i> , 2007	
	Procaína	0,98	EPC/pedra-pomes	Solução tampão KH ₂ PO ₄ e Na ₂ HPO ₄ , 1,25 x 10 ⁻¹ mol L ⁻¹	WANG <i>et al.</i> , 2002
		0,87	ECl	Solução de 0.1 mol L ⁻¹ KCl + 0.020 mol L ⁻¹ KH ₂ PO ₄ (pH 7.0)	DE JONG <i>et al.</i> , 2016
		1,13	GCE/RuOHCF	Solução de NaNO ₃ 0,5 mol L ⁻¹ e HCl 0,05 mol L ⁻¹	SILVA; SALLES; PAIXÃO, 2015

PIGE: eletrodo de grafite impregnado com parafina; GCE/MIP: eletrodo de carbono vítreo modificado com um polímero molecular impresso; EPC: eletrodo de pasta de carbono; GCE/Cu₂V₂O₇: eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de vanadato de cobre (Cu₂V₂O₇); MIP: polímero com impressão molecular; DDB: eletrodo de diamante dopado com boro; EPC/p-cloranil: eletrodo de carbono modificada com p-cloranil; SPCE: eletrodo de carbono serigrafado; EPC/pedra-pomes: eletrodo de pasta de carbono modificado com pedra-pomes ; ECl: eletrodo impresso de carbono; GCE/RuOHCF: carbono vítreo modificado com filme de hexacianoferrato de rutênio.

Tabela 2- Trabalhos encontrados na literatura com possíveis reduções para a para cafeína e cocaína e fenacetina.

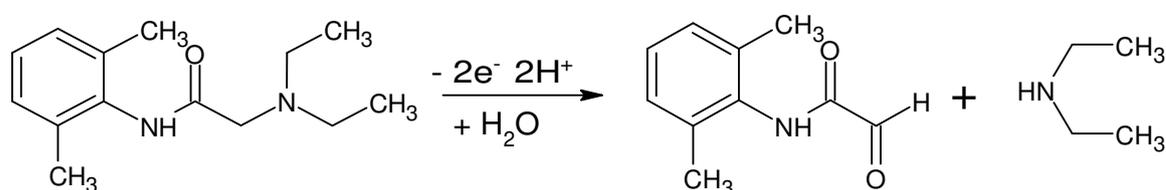
Região eletroativa	Composto em que a estrutura está presente	Potencial de pico (V)	Eletrodo de trabalho	Eletrólito	Referência
Anel de pirimidinodiona, grupo carbonila tipo ureia	Cafeína	2,5 V	GCE	Solução de dimetilformamida e NaClO ₄ na ausência e presença de água 2x10 ⁻² mol L ⁻¹	PANDOLFI <i>et al.</i> , 2019
Redução da carbonila a hidroxila	Cocaína	0,8	ECP@Mn(salen)	Solução de cloreto de potássio 0.1 mol L ⁻¹	CASTRO <i>et al.</i> , 2020
N-acetil- <i>p</i> -benzo-quinona imina a Paracetamol	Fenacetina	0,45 V	ETPG	Solução tampão fosfato salino 0,1 mol L ⁻¹ (pH 6.0)	ÖZCAN; ŞAHIN, 2011

GCE: eletrodo de carbono vítreo; ECP@Mn(salen): pasta de carbono modificada quimicamente com N,N'-etileno-bis-(salicilideneiminato de manganês(II)); ETPG: grafite de lápis tratado eletroquimicamente.

Levando em consideração a estrutura dos anestésicos e a observação de Komorsky-Lovrić e colaboradores em que nos dizem que ésteres, éteres e álcoois não podem ser oxidados em potenciais menores que 2 V (KOMORSKY-LOVRIĆ; VUKAŠINOVIĆ; PENOVSKI, 2003), os picos observados para os anestésicos em 0,75 V a 1,03 V, presentes na Tabela 1, provavelmente correspondem a oxidação de grupos amino e amida (PYSAREVSKA; PLOTYCYA; DUBENSKA, 2021).

A molécula de lidocaína possui dois centros eletroativos (amina alifática terciária e amida aromática) e sofre oxidação eletroquímica irreversível (KOMORSKY-LOVRIĆ; VUKAŠINOVIĆ; PENOVSKI, 2003; RAHBAR; RAMEZANI; BABAPOUR, 2015; RAHBAR; RAMEZANI; GHANAVATI, 2016). Os resultados do trabalho de Rahbar e colaboradores mostraram que os produtos da oxidação da amina terciária em solução aquosa foram aminas secundárias e aldeídos, os mesmos afirmam que a oxidação da amida é mais difícil de acontecer pela existência do grupo aromático que atua como retirador de elétrons dificultando a oxidação do grupamento amida (RAHBAR; RAMEZANI; BABAPOUR, 2015). Em contrapartida os autores afirmam que os grupos etila agem como doadores de elétrons facilitando a oxidação da amina terciária da lidocaína. Assim a oxidação da amina é mais provável de acontecer que a oxidação da amida e os produtos da oxidação da amina terciária são amina secundária e aldeído (RAHBAR; RAMEZANI; BABAPOUR, 2015) como demonstrado na Figura 7 (potenciais de pico de oxidação da amina terciária da lidocaína pode ser visto na Tabela 1).

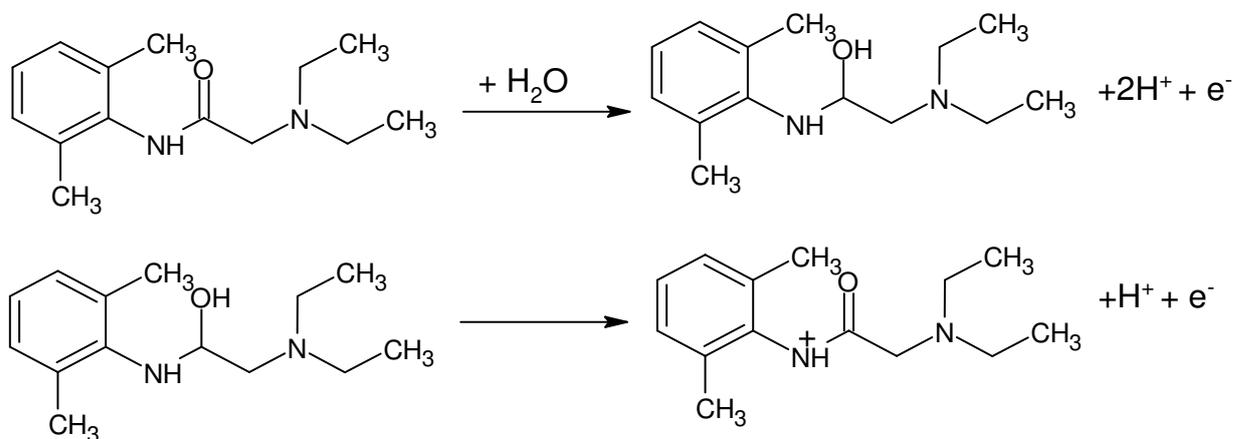
Figura 7- Reação da oxidação da lidocaína



Fonte: RAHBAR; RAMEZANI; BABAPOUR, 2015

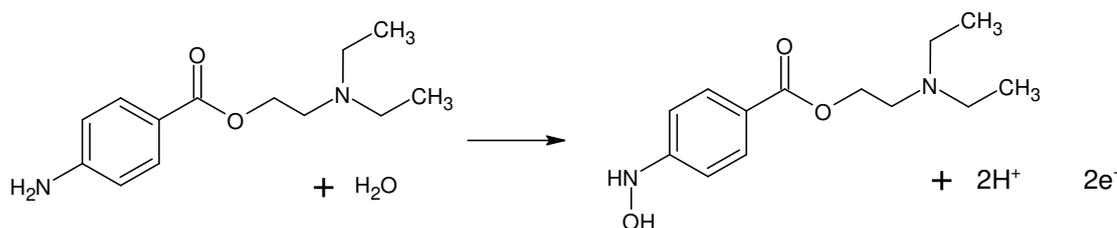
Entretanto, Yang e Zhao propõem outro mecanismo de oxidação eletroquímica para a lidocaína, um pouco diferente da oxidação apresentada acima (YANG; ZHAO, 2014). Para os autores a oxidação se daria em duas etapas na região da carbonila como pode ser visto na figura 8, tal processo resultou em dois picos irreversíveis e o potencial de pico de oxidação da amida pode ser visto na Tabela 1.

Figura 8- Mecanismo de oxidação da amida da lidocaína



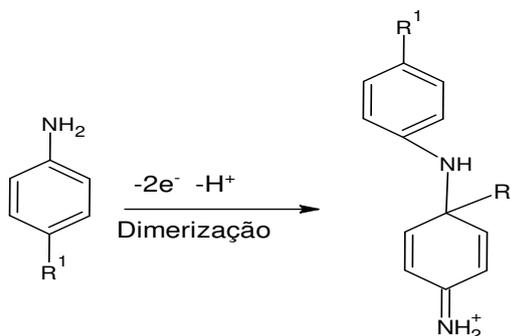
Fonte: YANG; ZHAO, 2014

A procaína possui em sua estrutura dois grupos amina, uma primária e outra secundária (KOMORSKY-LOVRIĆ; VUKAŠINOVIĆ; PENOVSKI, 2003; SILVA; SALLES; PAIXÃO, 2015) A oxidação da procaína se dá na região da amina primária e o produto proposto seria uma hidroxilamina em um processo que envolve dois prótons e dois elétrons (SILVA; SALLES; PAIXÃO, 2015; WANG *et al.*, 2002; WU *et al.*, 2006) como demonstrado na Figura 9. Os potenciais de pico para oxidação da amina primária da procaína podem ser vistos na Tabela 1.

Figura 9- Mecanismo de oxidação da Procaína

Fonte: SILVA; SALLES; PAIXÃO, 2015

A benzocaína também possui em sua estrutura uma amina primária e um grupo éster (KOMORSKY-LOVRIĆ; VUKAŠINOVIĆ; PENOVSKI, 2003; PYSAREVSKA *et al.*, 2018). Como já foi relatado anteriormente, grupos éster se oxidam em potenciais mais positivos (segundo Pysarevska acima de 1,2 V e segundo Komorsky-lovrić acima de 2 V) (PYSAREVSKA *et al.*, 2018; KOMORSKY-LOVRIĆ; VUKAŠINOVIĆ; PENOVSKI, 2003). Em geral, para a oxidação da benzocaína assim como de outros como anilinas p-substituídas em meio aquoso é proposto um mecanismo que passa por duas etapas (PYSAREVSKA *et al.*, 2018). Durante a primeira etapa, o cátion-radical livre pode ser formado e dois elétrons e um próton podem fazer parte da reação eletroquímica. Os cátions radicais livres, então, na segunda etapa podem sofrer acoplamento rápido, dando origem a 4-aminodifenilaminas substituídas conforme representado na Figura 10. Por fim, os autores propõem que o produto de oxidação da benzocaína cátion-radical estável, precisa ser confirmado a partir de outras análises dos produtos das reações eletroquímicas. O potencial de pico da oxidação da benzocaína pode ser visto na Tabela 1.

Figura 10- Possível mecanismo de oxidação da benzocaína

Fonte: PYSAREVSKA *et al.*, 2018

A oxidação dos anestésicos aqui estudados em estado sólido já foi relatada na literatura. No trabalho de Komorsky-Lovrić e colaboradores, micropartículas sólidas dos anestésicos locais benzocaína, lidocaína, procaína e codeína, foram imobilizadas mecanicamente na superfície do eletrodo de grafite impregnado com parafina e investigadas por voltametria de onda quadrada e cíclica para desenvolver um método para sua determinação qualitativa (KOMORSKY-LOVRIĆ; VUKAŠINOVIĆ; PENOVSKI, 2003). Não menos importante, no trabalho recente de Jong e colaboradores também foram relatados os picos oxidativos em estado sólido para os anestésicos lidocaína, procaína e lidocaína, assim como para a fenacetina e cafeína, e uma série de outros compostos que são utilizados como adulterantes para cocaína (JONG *et al.*, 2016). Para tal, os autores desenvolveram um sensor eletroquímico vestível, sendo que o novo conceito é promissor para triagem de drogas no local da apreensão. Para Jong e colaboradores a lidocaína apresentou pico em 0,9 V, procaína 0,87 V e benzocaína 0,84 V e os picos foram atribuídos a oxidação da lidocaína na região da amina terciária e a oxidação da procaína e benzocaína na região da amina primária.

Apesar de haver relatos sobre a redução da lidocaína, procaína e benzocaína (KOMORSKY-LOVRIĆ; VUKAŠINOVIĆ; PENOVSKI, 2003) até onde se sabe e até o momento da escrita deste trabalho, não foi relatado em literatura a elucidação do mecanismo de redução para estes anestésicos.

3.5. Voltametria

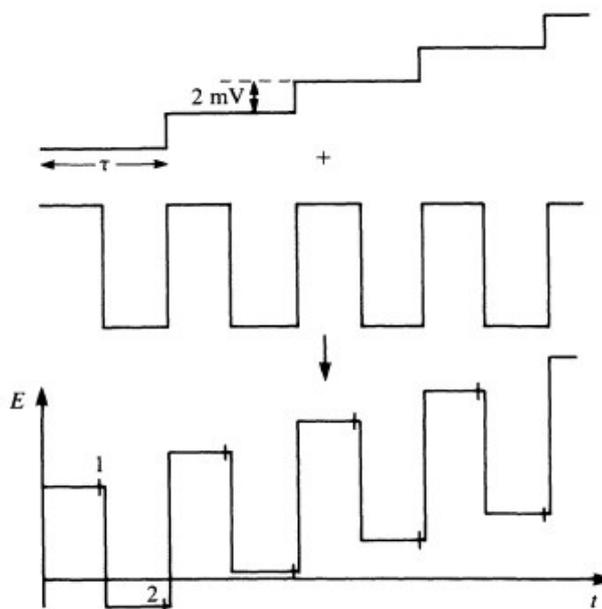
A voltametria é uma técnica eletroanalítica que se baseia nos fenômenos que ocorrem na interface entre a superfície de um eletrodo de trabalho e a camada fina de solução adjacente a essa superfície. Assim, nessa técnica, as informações sobre o analito são obtidas por meio da medição da magnitude da corrente elétrica que surge entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo auxiliar ao se aplicar uma diferença de potencial entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência (SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, 2002). Os primeiros estudos voltamétricos foram feitos por Heyrovsky e Kuceras em 1922 usando um eletrodo gotejante de mercúrio como eletrodo de trabalho e como eletrodo de referência um eletrodo de calomelano saturado, desta maneira a primeira técnica voltamétrica desenvolvida foi a polarografia (BRETT; BRETT, 1993). A voltametria clássica na qual as substâncias são dissolvidas no eletrólito foi descrita em Kolthoff e Laitinen, em 1940 (KOLTHOFF; LAITIKI, 1940) sendo este método analítico o mais importante no campo da eletroquímica (DE CARVALHO *et al.*, 2010)

Ao contrário da polarografia clássica com eletrodo gotejante, na voltametria o eletrodo é estático e a área do eletrodo se mantém constante. Atualmente uma infinidade de eletrodos tem sido utilizados para análises voltamétricas com ou sem modificação, tais como; eletrodo de grafite (DURIGON *et al.*, 2020), eletrodo de carbono serigrafado (BERGAMINI *et al.*, 2007), eletrodo à base de negro de fumo (MACIEL *et al.*, 2022), de biocarvão/biochar (DE ALMEIDA *et al.*, 2020), dentre outros.

A técnicas voltamétricas se apresentam como uma boa alternativa para muitas aplicações na química analítica, seja no controle de qualidade de produtos farmacêuticos, controle de qualidade de produtos alimentícios, estudos ambientais, análise de combustíveis entre outras (BRETT; BRETT, 1993). A técnicas voltamétricas possuem inúmeras vantagens tais como; baixo custo para aquisição dos equipamentos e para manutenção, simples operação, grande sensibilidade e baixos limites de detecção, possibilitando análises *in situ* e em alguns casos não necessita de preparo de amostra (BRETT; BRETT, 1993; DOMÉNECH-CARBÓ; DIAS, 2021; SILVEIRA *et al.*, 2020).

Dentre as técnicas voltamétricas a voltametria de onda quadrada (SWV do inglês, *square wave voltammetry*) é uma das mais utilizadas, por ser rápida e sensível (MIRCESKI *et al.*, 2013). A SWV foi inventada em 1952 por Barker. Nesta técnica uma onda quadrada simétrica de amplitude é sobreposta a uma rampa de potencial na forma de escada como demonstrado na Figura 11. A medida de corrente acontece apenas ao final do pulso de potencial no sentido anódico ou catódico, onde a magnitude da corrente capacitiva já está minimizada, aumenta a sensibilidade da técnica, diminuindo o ruído, tornando mais viável a sua aplicação para análises (BRETT; BRETT, 1993).

Figura 11- Representação esquemática de aplicação de potencial na voltametria de onda quadrada



Fonte: BRETT; BRETT, 1993

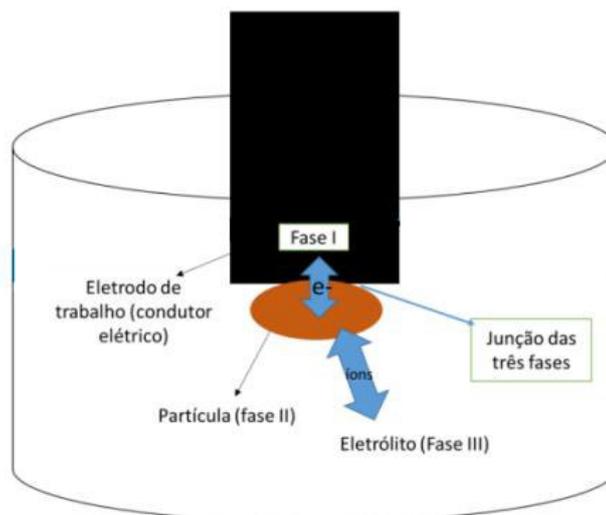
Por fim na SWV as varreduras podem ser realizadas ou no sentido catódico obtendo picos de redução ou no sentido anódico obtendo picos de oxidação tais análises permitem identificar os picos específicos a cada processo (BRETT; BRETT, 1993).

3.6. Voltametria de micropartículas imobilizadas (VIMP)

Os estudos sobre a VIMP iniciaram em 1989 com Scholz e colaboradores e foi chamada de voltametria abrasiva de redissolução (AbrSV do *inglês abrasive stripping voltammetry*) (SCHOLZ, 2009; SCHOLZ; LANGE, 1992). O método baseia-se em imobilizar um conjunto de partículas microcristalinas sólidas para a superfície de um eletrodo adequado, que é então transferido para uma solução eletrolítica e investigado eletroquimicamente ou por métodos complementares (SCHOLZ, 2009); A aplicação da VIMP baseia-se no fato de que, pela Lei de Faraday, quantidades extremamente pequenas de uma amostra são suficientes para gerar facilmente correntes mensuráveis (GRYGAR *et al.*, 2002).

Na análise por VIMP o eletrodo contendo a amostra imobilizada quando adicionado a célula eletrolítica forma o sistema trifásico (eletrodo/composto/solução) no qual as reações eletroquímicas se processam. Quando o eletrodo é adicionado ao eletrólito, somente a interface da superfície do eletrodo entra em contato com a superfície do eletrólito. Isso garante que as reações de oxirredução acontecem somente na junção das três fases (SCHOLZ; LANGE, 1992). Desta maneira as regiões eletroativas presentes no composto imobilizado troca elétrons com o eletrodo de trabalho e íons com o eletrólito formando o sistema trifásico (SCHOLZ; LANGE, 1992), como demonstrado na Figura 12.

Figura 12- Desenho esquemático do sistema eletródico de três fases



Fonte: SILVA, 2018

As partículas fixadas à superfície do eletrodo contêm moléculas neutras e íons com quantidades idênticas de cargas positivas e negativas. Desta maneira, as reações eletroquímicas ocorrem através de transferência de elétrons entre as Fases I e II acompanhada de uma transferência de íons entre as Fases II e III, pois a respectiva carga da micropartícula deve ser balanceada para manter a eletroneutralidade da Fase II (partículas imobilizada) (HERMES; SCHOLZ, 2009).

A imobilização de micropartículas tem se tornado um método bastante utilizado para ensaios diretos de sólidos, devido à facilidade de preparação do eletrodo, evitando a dissolução da amostra, além de possibilitar uma análise rápida e de baixo custo (DE CARVALHO *et al.*, 2010). Além disso, permitem investigar as composições qualitativas e quantitativas e caracterizar as propriedades químicas e eletroquímicas dos compostos, fornecendo informações específicas sobre a cinética e termodinâmica das reações dos sólidos que podem ser relacionadas à sua estrutura e composição, em alguns casos permitindo ainda identificar a presença de diferentes espécies sólidas em uma única análise (SCHOLZ; LANGE, 1992).

Dentre as principais vantagens desta técnica estão a possibilidade utilizar uma quantidade mínima de amostra (microgramas a nanogramas, se necessário) e a

não necessidade de tratamento da amostra (DOMÉNECH-CARBÓ *et al.*, 2013). Em geral, qualquer amostra sólida, insolúvel ou parcialmente solúvel é adequada para ser analisada utilizando a VIMP (DOMÉNECH-CARBÓ; LABUDA; SCHOLZ, 2013). Em relação aos eletrodos de trabalho, os eletrodos mais adequados são o grafite pirolítico e o grafite impregnado de parafina. No entanto, os eletrodos de carbono vítreo e grafite de comercial de lapiseira também podem ser utilizados (GRYGAR *et al.*, 2002; SILVEIRA *et al.*, 2020; DURIGON *et al.*, 2020).

Como já visto nessa revisão da literatura atualmente existem poucos trabalhos na literatura que analisam cafeína, fenacetina, lidocaína, procaína e benzocaína utilizando voltametria. Mas é relatado que a metodologia da voltametria de micropartículas imobilizadas pode ser utilizada para o *screening* de princípios ativo em formulações farmacológicas (KOMORSKY-LOVRI; NIGOVI, 2004) e detecção de fármacos sintéticos quando empregados como adulterantes em formulações fitoterápicas (DOMÉNECH-CARBÓ *et al.*, 2013). Inclusive, já foi empregada para identificação dos picos característicos de lidocaína, procaína e benzocaína e alguns outros fármacos (KOMORSKY-LOVRIĆ; VUKAŠINOVIĆ; PENOVSKI, 2003) .

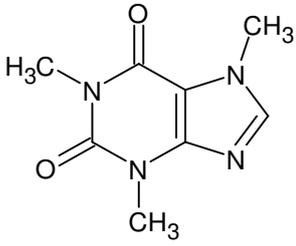
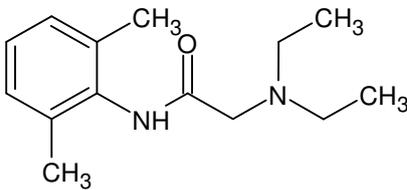
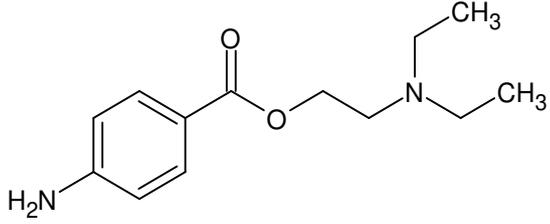
Sendo assim, o estudo da utilização da VIMP-SWV no *screening* de cafeína, fenacetina, lidocaína, procaína e benzocaína é importante pois pode estabelecer uma metodologia rápida e eficiente de detectar adulterações em formulações farmacêuticas e comerciais.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

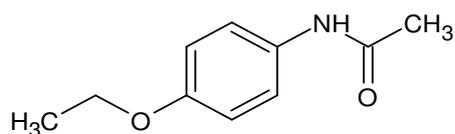
4.1. Reagentes, soluções e amostras

Os padrões dos fármacos cafeína (Acros Organics), procaína e fenacetina (ambas Dalawerw), lidocaína e benzocaína (ambas Fluka) ambos na forma neutra, foram cedidos pela polícia da Unidade Técnico-Científica da Polícia Federal de Pelotas. A estrutura química de cada composto encontra-se demonstrada na Tabela 1. A solução tampão de acetato de sódio foi preparada a partir de acetato de sódio da ProQuími (Brasil) e ácido acético da Synth (Brasil). As demais soluções utilizadas foram NaCl, HCl e H₂SO₄ todos da Synth (Brasil).

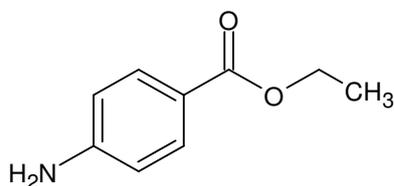
Tabela 3- Estrutura química dos compostos utilizados neste trabalho

<i>Compostos</i>	<i>Estrutura química</i>
Cafeína	
Lidocaína	
Procaína	

Fenacetina



Benzocaína



Fonte: Autor

As amostras utilizadas neste trabalho foram amostras manipuladas no laboratório e amostras comerciais. As amostras manipuladas contendo os fármacos em pó foram obtidas com a composição a seguir descrita:

- amostra 1: lidocaína, procaína e benzocaína;
- amostra 2: lidocaína, procaína, benzocaína e cafeína;
- amostras 3: lidocaína, procaína, benzocaína e fenacetina.

Já as amostras comerciais adquiridas no comércio local de Rio Grande (RS) continham:

- amostra 4: paracetamol (1 g) mais cafeína (130 mg);
- amostra 5: cápsula de termogênico de cafeína pura,

A solução do tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 5 foi preparado utilizando 14,5 mL do ácido acético 0,1 mol L⁻¹ (preparado com 5,75 mL de ácido acético PA em 1000 mL de água ultrapura) e 35,2 mL do acetato de sódio 0,1 mol L⁻¹ (preparado com 8,2 g de C₂H₃O₂Na em 1000 mL de água ultrapura) e completado até 100 mL com água ultrapura.

Para a solução de NaCl 0,1 mol L⁻¹ foi utilizado 5,84g de NaCl PA e solubilizado em 1000 mL de água ultrapura. Para o HCl 0,1 mol L⁻¹ foi diluído 8,4 mL do ácido em

1000 mL de água ultrapura. Para a solução de H_2SO_4 foi diluído 3 mL do ácido em 1000 mL de água ultrapura.

A vidraria e outros materiais comuns de laboratório utilizados nas análises foram descontaminados por imersão em uma solução de HNO_3 10% (v/v) (Synth, Brasil) durante 24 h e, posteriormente, lavados com água ultrapura.

As células voltamétricas foram descontaminadas por imersão em uma solução de HNO_3 20% (v/v) (Synth, Brasil) e antes de serem utilizadas foram lavadas com água ultrapura.

4.2. Instrumentação

As análises voltamétricas foram realizadas utilizando um Potenciostato/Galvanostato Autolab (modelo PGSTAT 204N) e Interface Autolab (modelo Motorcontroller for rotator) controlado pelo Software Nova 2.1.3. Os dados de todas as análises foram tratadas pelo programa OriginPro 8.0.

Utilizou-se uma célula de três eletrodos que consistia em uma barra de grafite (hastes cilíndricas de diâmetro 2 mm, Faber Castell, Alemanha) como eletrodo de trabalho, um eletrodo de referência de Ag/AgCl (NaCl 3 mol L^{-1}) e platina como o eletrodo auxiliar.

As balanças analíticas AUW220D (Shimadzu, Japão) com resolução de $\pm 0,01$ mg, H10 (Mettler, EUA) com precisão $\pm 0,1$ mg e Marte (Marte Científica, Brasil) com precisão ± 1 mg, utilizadas para os procedimentos de pesagem.

Para aferir o pH do tampão acetato, utilizou-se pHmetro (Metrohm, Suíça) titrando 888 equipado com um eletrodo de vidro combinado com um eletrodo de referência de Ag/AgCl (KCl 3 mol L^{-1}).

Para o preparo de soluções e lavagem das vidrarias foi utilizada água ultrapura obtida a partir de um sistema de purificação Milli-Q Direct-Q UV3® (Millipore, Alemanha), com resistividade de $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$.

4.3. Procedimento analítico

Para a imobilização dos compostos no eletrodo em estado sólido, primeiramente foi realizada a maceração dos padrões e amostras com um almofariz e pistilo de ágata, para garantir a uniformidade das partículas e também para obter o material finamente distribuído. O eletrodo de grafite foi primeiro lixado com uma lixa 60 mm e polido com papel sulfite e depois foi pressionado sobre cada padrão para que houvesse a imobilização dos compostos sólidos por abrasão. Após, o eletrodo foi cuidadosamente adicionado na célula voltamétrica tomando muito cuidado para que apenas a superfície do eletrodo contendo a substância imobilizada estivesse em contato com o eletrólito suporte.

Para avaliação do perfil eletroquímico dos padrões utilizou-se SWV, com E_{step} de 4 mV, amplitude de 25 mV e frequência de 5 Hz com potenciais de -0,8 a 1,7 V (em tampão acetato pH 5, NaCl, HCl e H_2SO_4 , todos em concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$). Destaca-se que as avaliações foram obtidas nos sentidos anódico de -0,8 a 1,7 V e catódico de 1,7 a -0,8 V. Para as amostras analisadas o mesmo protocolo foi utilizado para SWV com E_{step} de 4 mV, amplitude de 25 mV e frequência de 5 Hz em solução de tampão acetato concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5, no sentido catódico de 1,7 a -0,8 V.

Também foi analisado utilizando o mesmo protocolo descrito por SWV cada um dos padrões no sentido anódico após varredura catódica e no sentido catódico após varredura anódica utilizando como eletrólito a solução tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Utilizou-se as mesmas condições experimentais mencionadas anteriormente (potenciais de -0,8 a 1,7 V e de 1,7 a -0,8, E_{step} de 4 mV, amplitude de 25 mV e frequência de 5 Hz).

No caso das análises por SWV com o composto em solução, 10 mg L⁻¹ dos padrões (cafeína, lidocaína, procaína, fenacetina e benzocaína) foram adicionados na célula voltamétrica contendo a solução de tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 5. Utilizou-se nas mesmas condições experimentais mencionadas anteriormente (potenciais de -0,8 a 1,7 V e de 1,7 a -0,8 V, E_{step} de 4 mV, amplitude de 25 mV e frequência de 5 Hz).

5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

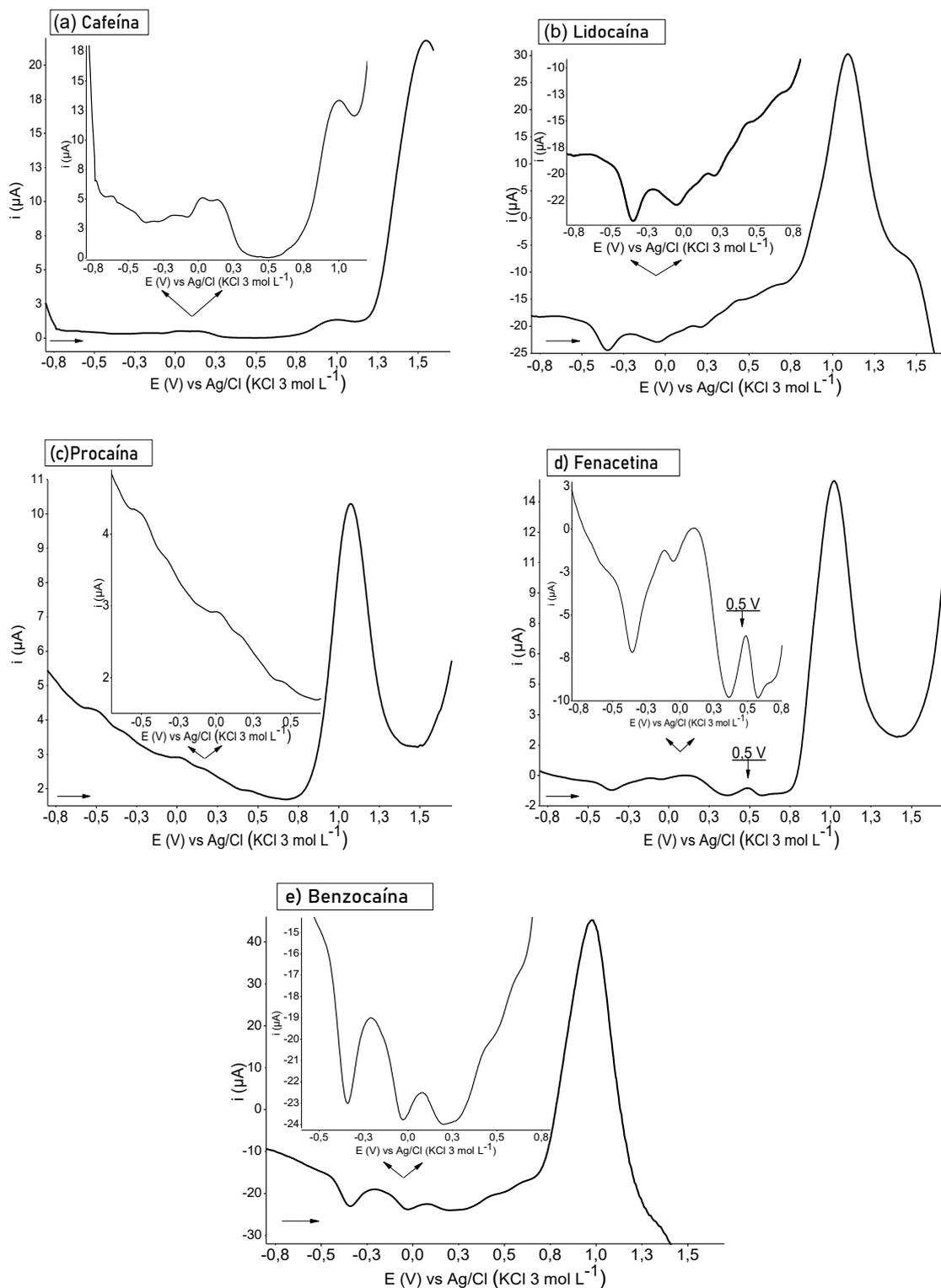
5.1. Screening em estado sólido.

5.1.1. Comparação entre as respostas voltamétricas dos compostos em diferentes tipos de eletrólitos.

Inicialmente, avaliou-se o comportamento eletroquímico dos compostos cafeína, lidocaína, procaína, fenacetina e benzocaína por SWV sentido anódico e catódico, nos diferentes eletrólitos solução tampão acetato pH 5, NaCl, HCl e H₂SO₄, ambos em concentração de 0,1 mol L⁻¹ com o intuito de obter o perfil de cada composto na tentativa de propor um método de *screening* para estes fármacos. Em comum as Tabelas de 3 a 10, apresentam marcações com “X” representando que nos referidos potenciais o composto apresenta pico de oxidação ou redução. Se estes picos representarem picos de caracterização específica do composto, a letra “X” estará destacada em vermelho.

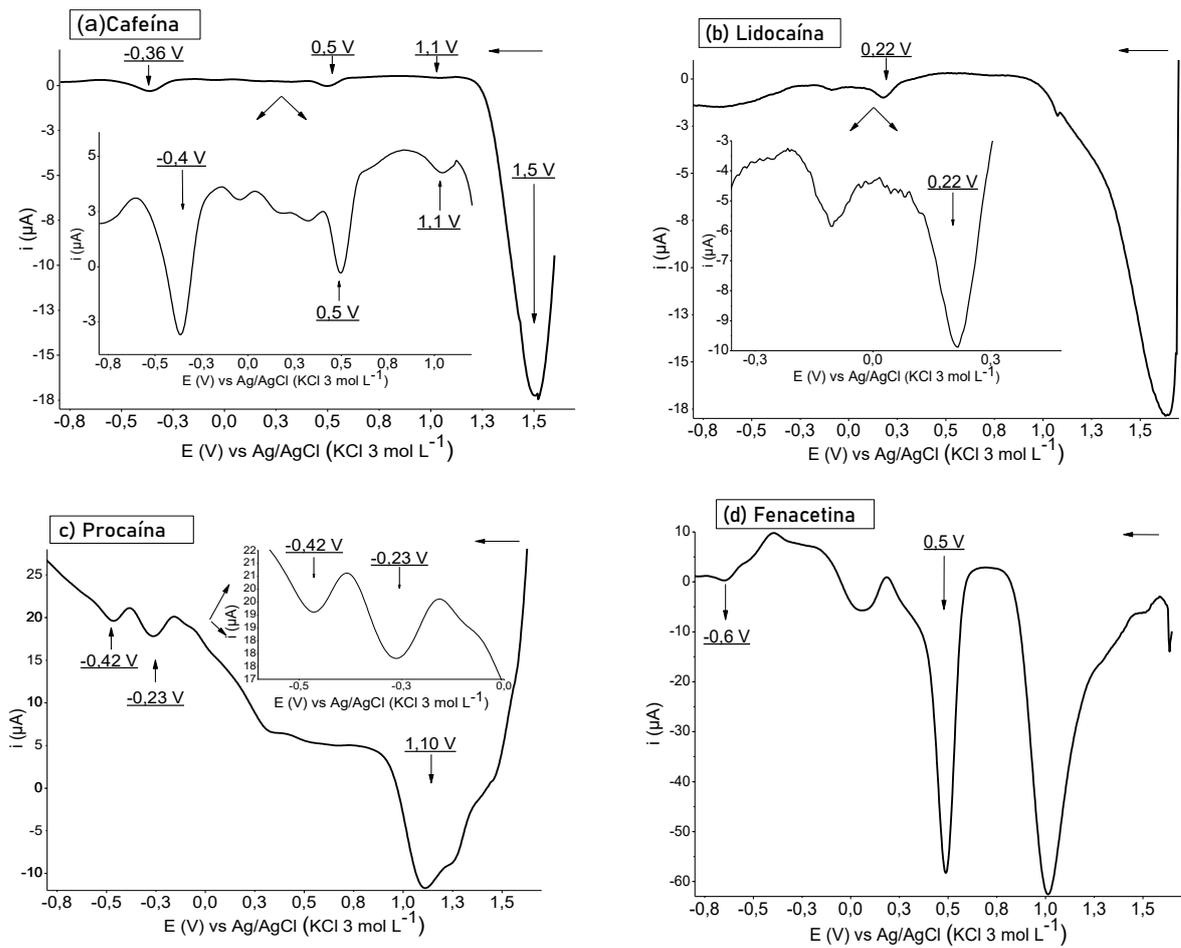
Na Figura 13 e Tabela 3 estão representados os voltamogramas anódicos e os potenciais de oxidação obtidos para cada composto utilizando como eletrólito o tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 5.

Figura 13- Voltamogramas anódicos em estado sólido de (a) cafeína, (b) lidocaína, (c) procaína, (d) fenacetina e (e) benzocaína obtidos por SWV em tampão acetato $0,1\text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial} : $-0,8\text{ V}$; E_{final} : $1,7\text{ V}$, E_{step} : 4 mV , frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV .



Na Figura 14 e Tabela 4, estão representados os voltamogramas catódicos e os potenciais de redução obtidos para cada composto utilizando como eletrólito tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, em pH 5.

Figura 14- Voltamogramas catódicos em estado sólido de (a) cafeína, (b) lidocaína, (c) procaína, (d) fenacetina e (e) benzocaína por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial} : $1,7 \text{ V}$; E_{final} : $-0,8 \text{ V}$, E_{step} : 4 mV , frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV .



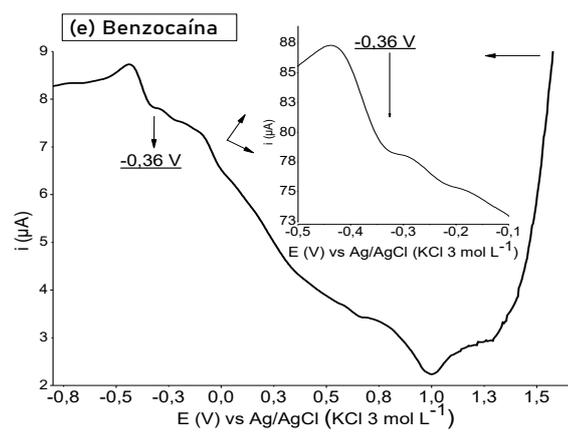
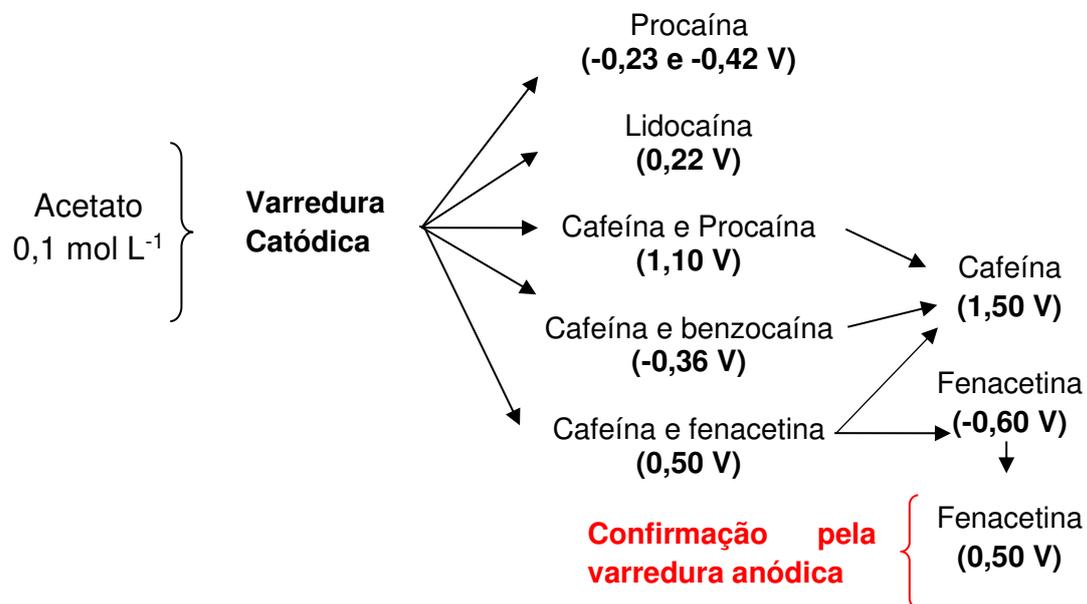


Tabela 5- Potenciais de picos catódicos dos compostos em estado sólido em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 5.

Compostos	Potenciais catódicos (V)													
	1,65	1,50	1,10	1,00	0,70	0,50	0,32	0,22	0,17	-0,05	-0,23	-0,36	-0,42	-0,60
Cafeína		X	X	X		X	X		X			X		
Lidocaína	X	X	X		X			X	X	X				
Procaína		X	X	X	X		X			X	X		X	
Fenacetina	X	X	X	X		X				X				X
Benzocaína				X	X							X		

A partir das informações acima descritas é possível obter um critério de diagnóstico para *screening* dos cinco fármacos estudados, como demonstrado no Figura 15.

Figura 15- Esquema do critério de diagnóstico para *screening* eletroquímico em estado sólido por SWV utilizando como eletrólito tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5).

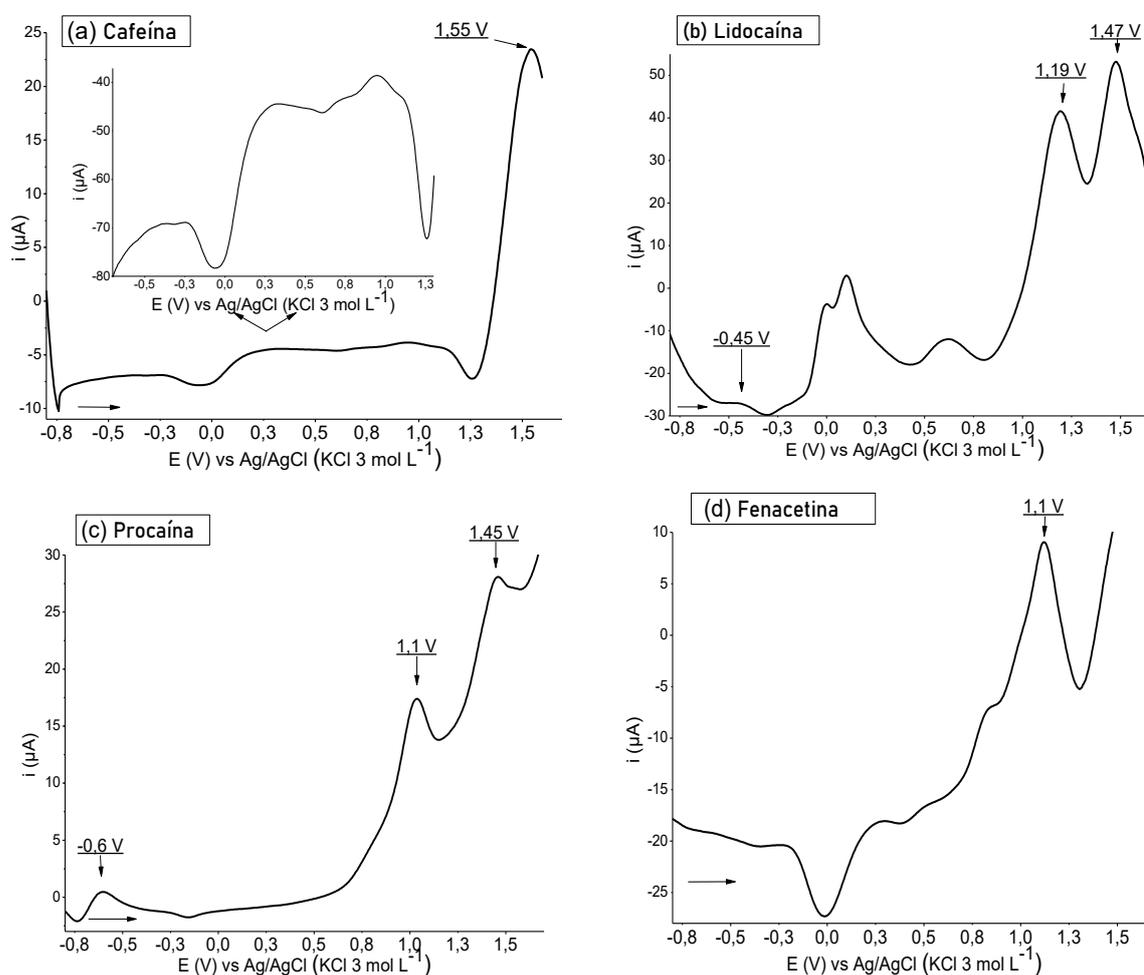


Como pode ser observado na Figura 3, no sentido catódico é possível identificar de forma específica a procaína, uma vez que apenas este analito apresenta os picos em -0,23 e -0,42 V, assim como a lidocaína em 0,22 V. Observa-se também que cafeína e benzocaína apresentam pico em -0,36 V mas destes, apenas cafeína possui pico em 1,50 V. Ainda na varredura catódica, cafeína e fenacetina possuem pico em 0,50 V mas apenas cafeína possui pico em 1,50 V e apenas fenacetina possui pico em -0,60 V, cuja presença pode ainda ser confirmada com a varredura anódica através

do pico em 0,50 V. A procaína e a cafeína possuem um pico em comum em 1,10 V, mas destas, apenas a cafeína possui pico em 1,50 V.

Na Figura 16 e Tabela 5, estão representados os voltamogramas anódicos e os potenciais de oxidação obtidos para cada fármaco em NaCl 0,1 mol L⁻¹.

Figura 16- Voltamogramas anódicos em estado sólido de (a) cafeína, (b) lidocaína, (c) procaína, (d) fenacetina e (e) benzocaína por SWV em NaCl 0,1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: -0,8 V; E_{final}: 1,7 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.



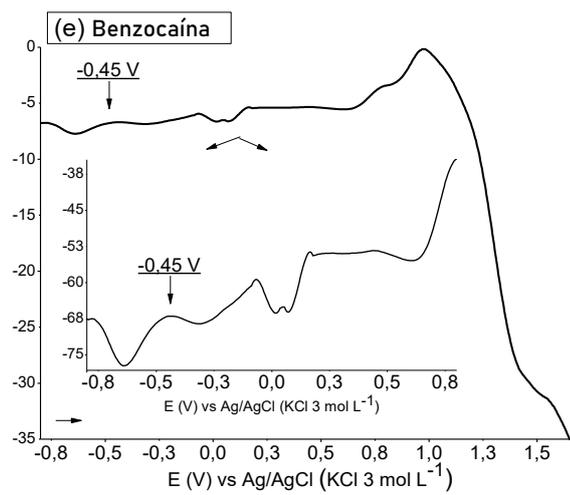


Tabela 6- Potenciais de picos anódicos dos compostos em estado sólido em NaCl 0,1 mol L⁻¹.

Compostos	Potenciais anódicos (V)															
	-0,60	-0,45	-0,37	-0,30	-0,20	0,00	0,05	0,30	0,45	0,60	0,80	1,00	1,10	1,19	1,45	1,55
Cafeína				X	X			Sobreposição de picos de 0,05 à 1,30							X	X
Lidocaína	X	X		X		X	X			X				X	X	X
Procaína												X	X		X	X
Fenacetina					X			X	X		X	X	X			
Benzocaína		X		X		X	X		X		X	X				

Na Figura 17 e Tabela 6, estão representados os voltamogramas catódicos e os potenciais de redução obtidos para cada composto utilizando como eletrólito o NaCl 0,1 mol L⁻¹.

Figura 17- Voltamogramas catódicos em estado sólido de (a) cafeína, (b) lidocaína, (c) procaína, (d) fenacetina e (e) benzocaína por SWV em NaCl 0,1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: 1,7 V; E_{final}: -0,8 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.

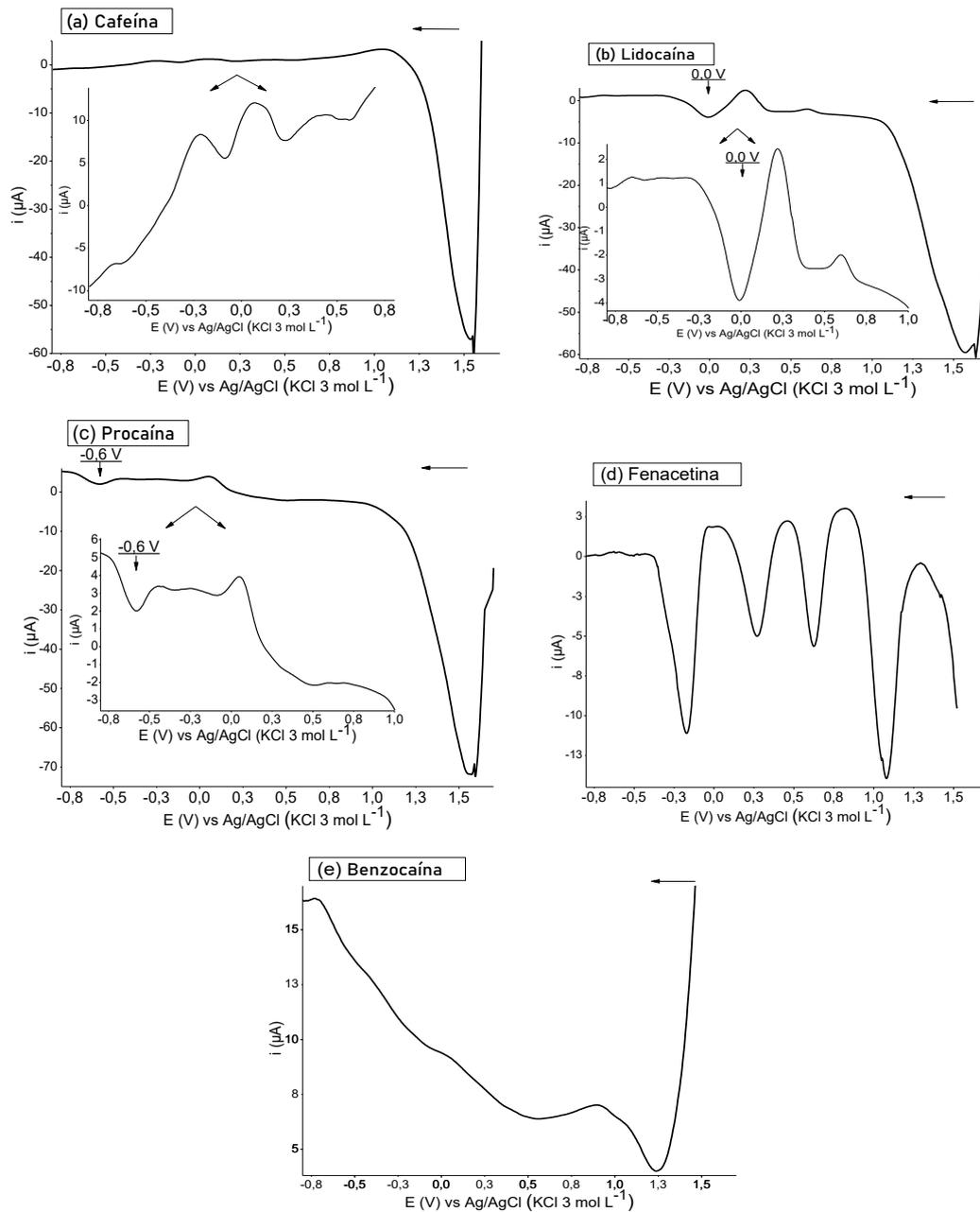
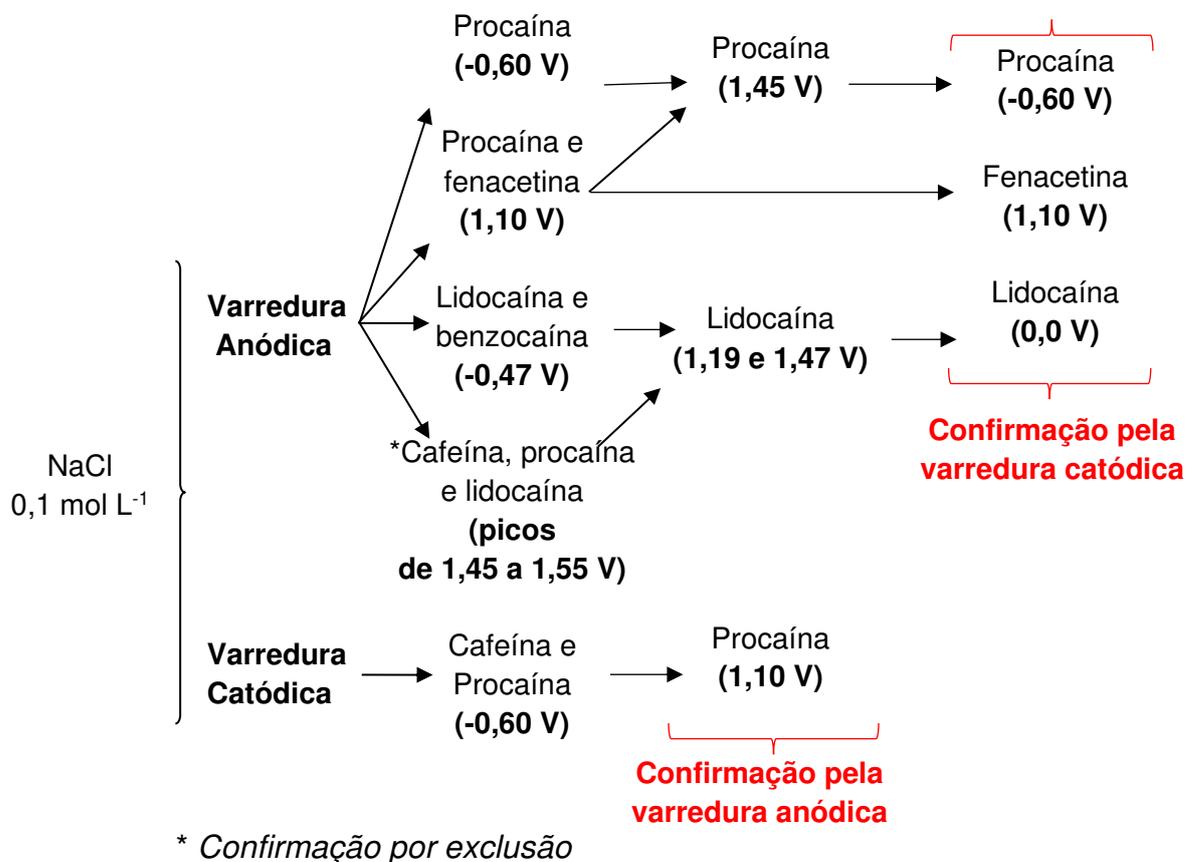


Tabela 7. Potenciais de picos catódicos dos compostos em estado sólido em NaCl 0,1 mol L⁻¹.

Compostos	Potenciais catódicos (V)										
	1,50	1,30	1,10	0,60	0,25	0,00	-0,10	-0,20	-0,35	-0,5	-0,60
Cafeína	X			X	X		X				
Lidocaína	X			X		X	X		X	X	
Procaína	X						X		X		X
Fenacetina	X		X	X	X			X		X	
Benzocaína		X	X	X			X				

A partir das informações anteriormente descritas, através dos picos obtidos com as varreduras anódicas e catódicas em NaCl 0,1 mol L⁻¹, foi possível desenvolver um possível critério de diagnóstico que está representado no Figura 18.

Figura 18- Esquema do critério de diagnóstico para *screening* eletroquímico em estado sólido por SWV utilizando eletrólito NaCl 0,1 mol L⁻¹.



As varreduras em NaCl sugerem que é possível realizar *screening* no sentido anódico para todos os compostos e confirmação no sentido catódico para procaína, fenacetina e lidocaína, além disso é possível identificar a cafeína e a procaína no sentido catódico e confirmar a procaína pela varredura anódica. Apenas a procaína pode ser identificada sem a interferência de outros compostos uma vez que possui

pico específico em -0,60 V no sentido anódico, podendo ser confirmada pelo sentido catódico com o pico em -0,60 V.

De uma forma geral em NaCl é possível ver várias sobreposições de picos, isso provavelmente está ocorrendo devido a elevada inserção iônica. Uma vez que em sólidos permeáveis há cátions e ânions, assim os processos de redução consistem no ingresso de elétrons na fase II acoplado à entrada de cátions eletrolíticos ou na emissão de ânions do sólido para o eletrólito, da mesma forma os processos de oxidação podem envolver a liberação de elétrons e a emissão de cátions ou a entrada de ânions de/para o eletrólito (DOMÉNECH-CARBÓ; DIAS; DOMÉNECH-CARBÓ, 2020). Desta maneira ao utilizar-se um eletrólito rico em cátions e ânions, se promove e facilita essas reações redox podendo gerar sobreposições de picos .

Em potencial próximo a 1,10 V, procaína e fenacetina apresentam pico de oxidação, mas apenas procaína apresenta pico de oxidação adicional em 1,45 V e pico de redução em -0,60 V permitindo a identificação da mesma. Assim como a procaína, cafeína e lidocaína apresentam pico de oxidação em 1,45 V, mas somente procaína apresenta picos de oxidação em 1,19 e 1,47 V e pico de redução em 0 V (neste conjunto de compostos, a cafeína pode apenas ser identificada por exclusão uma vez que não possui os picos descritos)

A fenacetina é o composto que tem o perfil característico melhor definido no sentido catódico em NaCl, com quatro picos intensos em 1,10; 0,60; 0,25 e -0,20 V. No sentido anódico há sobreposição entre a fenacetina e procaína (1,1 V), mas somente a procaína possui pico adicional em 1,45 V, o que as diferencia, adicionalmente no sentido catódico a fenacetina possui pico de confirmação em 1,10 V e a procaína em -0,6 V.

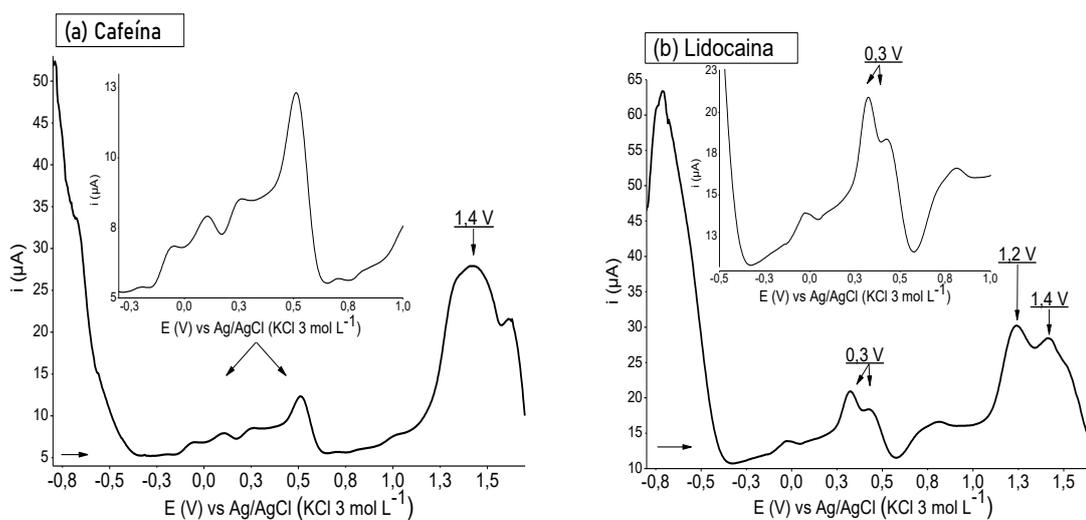
A cafeína e a procaína podem ainda ser identificadas no sentido catódico através do pico característico em -0,60 V que só elas possuem, e a procaína pode ser confirmada com o pico sentido anódico em 1,10 V e a cafeína identificada pela não existência desse pico de voltagem.

Em termos de comparação entre os critérios de diagnóstico até aqui descritos, os resultados obtidos em tampão acetato são mais adequados, uma vez que é possível identificar todos os compostos apenas no sentido catódico, sendo necessária

apenas uma confirmação no sentido anódico (para a fenacetina). Em contrapartida, em NaCl a confirmação nos dois sentidos da varredura se faz necessária para três compostos (lidocaína, procaína e fenacetina), e apenas um composto pode ser identificado sem a interferência de outros compostos (procaína). Adicionalmente, em NaCl se faz necessário recorrer ao método de exclusão para a identificação da cafeína, uma vez que há muitas sobreposições de pico.

Na Figura 19 e Tabela 7, estão representados os voltamogramas anódicos e os potenciais de oxidação obtidos para cada composto utilizando como eletrólito o HCl 0,1 mol L⁻¹.

Figura 19- Voltamogramas anódicos em estado sólido de (a) cafeína, (b) lidocaína, (c) procaína, (d) fenacetina e (e) benzocaína por SWV em HCl 0,1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: -0,8 V; E_{final}: 1,7 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.



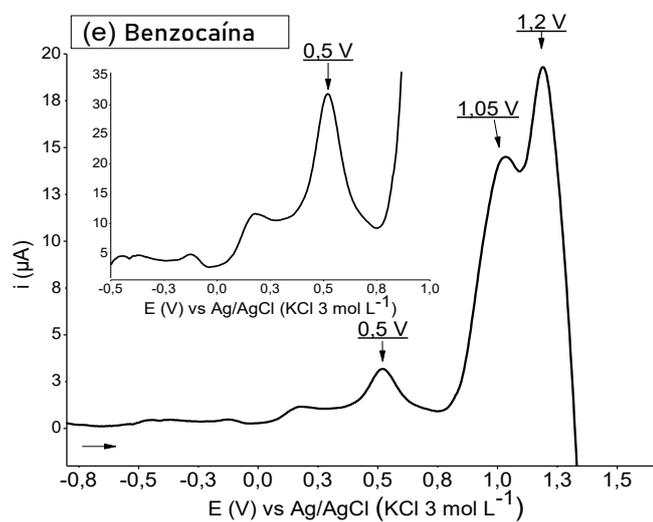
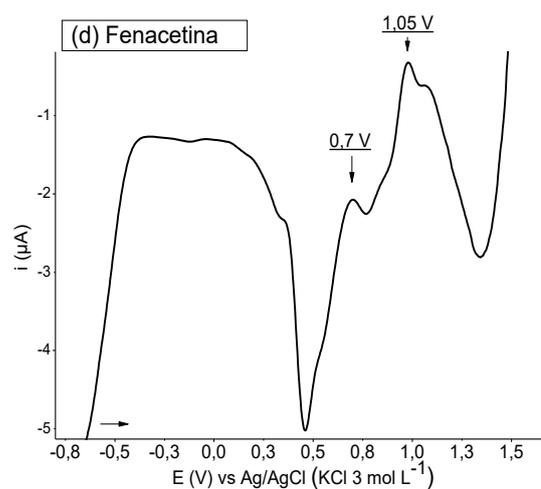
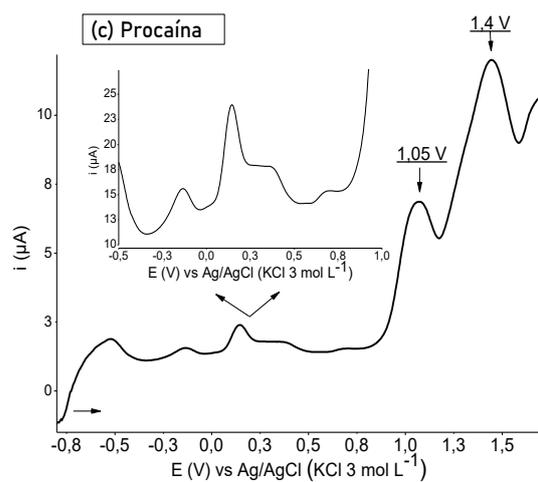
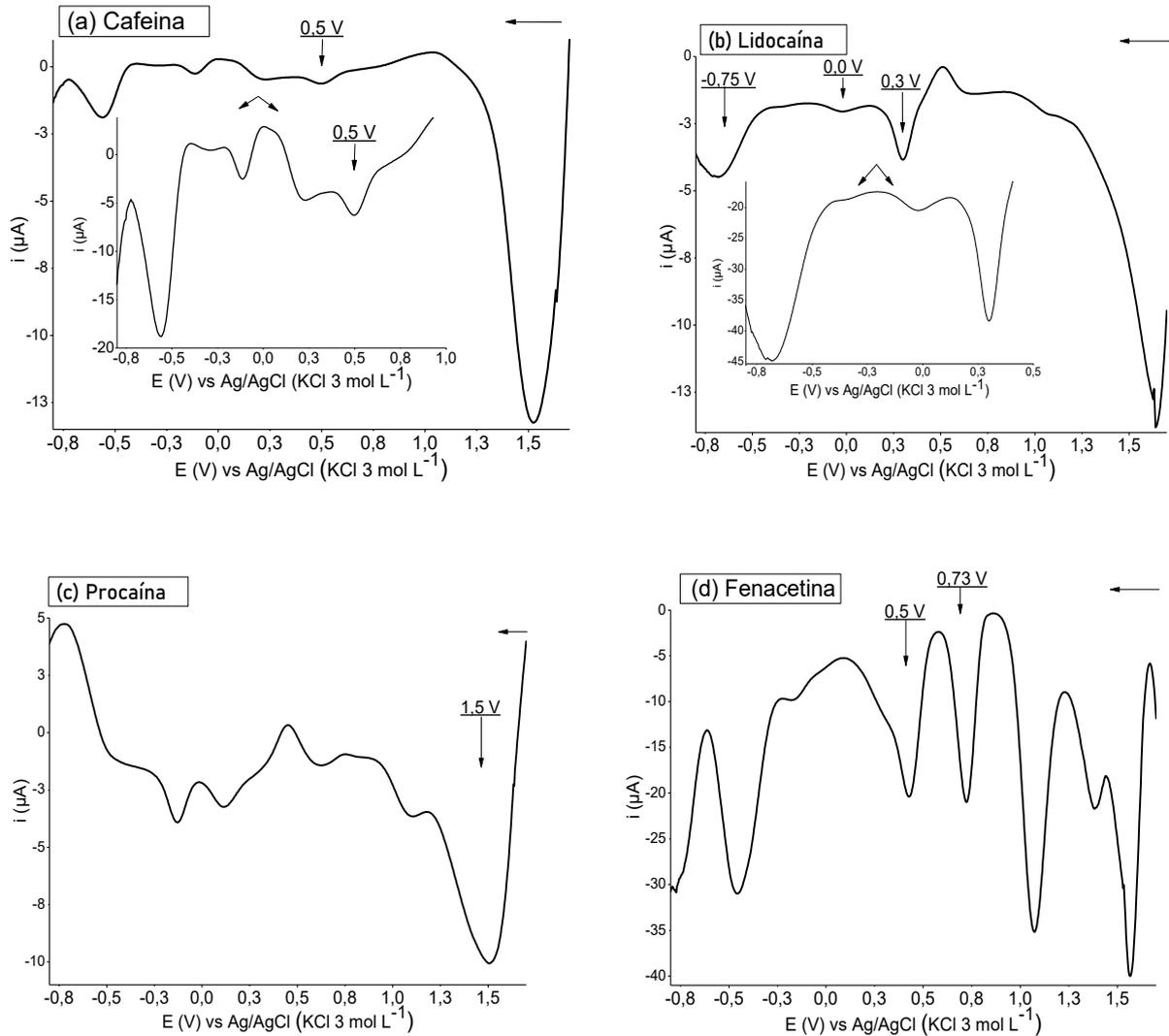


Tabela 8- Potenciais de picos anódicos dos compostos em estado sólido em HCl 0,1 mol L⁻¹.

Compostos	Potenciais anódicos (V)																
	-0,70	-0,50	-0,37	-0,20	-0,05	0,10	0,17	0,25	0,30	0,42	0,50	0,70	0,83	1,05	1,10	1,20	1,4
Cafeína	X	X	X	X	X	X	X	X			X		X	X			X
Lidocaína	X			X	X	X			X	X		X	X			X	X
Procaína		X		X		X	X	X		X		X		X	X		X
Fenacetina			Sobreposição de picos de -0,80 à 0,44										X	X	X	X	
Benzocaína	X	X	X	X			X	X			X			X	X	X	

Na Figura 20 e Tabela 8, estão representados os voltamogramas catódicos e os potenciais de redução obtidos para cada composto utilizando como eletrólito o HCl 0,1 mol L⁻¹.

Figura 20- Voltamogramas catódicos em estado sólido de (a) cafeína, (b) lidocaína, (c) procaína, (d) fenacetina e (e) benzocaína por SWV em HCl 0,1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: 1,7 V; E_{final}: -0,8 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.



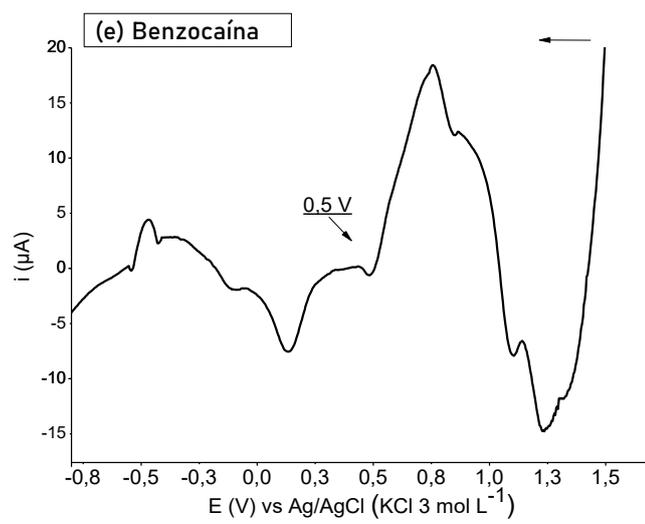


Tabela 9. Potenciais de picos catódicos dos adulterantes em estado sólido em HCl 0,1 mol L⁻¹.

Compostos	Potenciais catódicos (V)													
	1,50	1,23	1,1	0,85	0,73	0,60	0,50	0,30	0,14	0,00	-0,11	-0,41	-0,55	-0,75
Cafeína		X		X			X		X		X		X	
Lidocaína			X			X		X		X				X
Procaína	X		X	X		X			X		X	X		
Fenacetina			X		X		X					X		
Benzocaína		X	X	X			X		X		X	X	X	

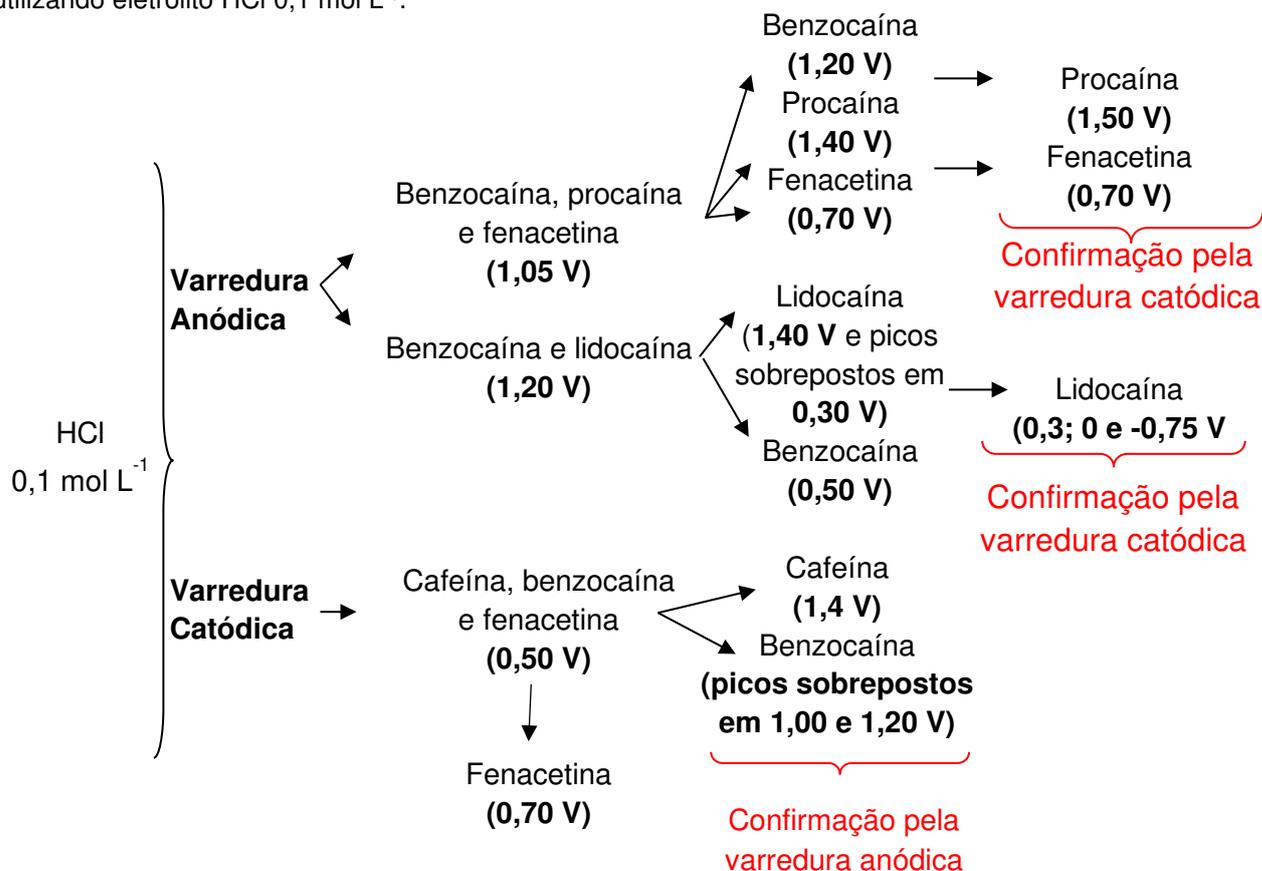
A investigação da redução dos adulterantes utilizando eletrólito HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ sugere que há critério de diagnóstico para os cinco compostos. Entretanto, dentre os eletrólitos investigados HCl foi o que mais gerou picos, principalmente no sentido anódico, tornando bastante difícil identificar picos específicos característicos, sendo necessário utilizar os dois sentidos da varredura para se obter a confirmação da presença dos compostos.

No sentido anódico o único composto que não pode ser identificado foi a cafeína, se fazendo necessário a varredura no sentido catódico. Dentre as determinações no sentido anódico, a benzocaína, procaína e fenacetina possuem pico em $1,05 \text{ V}$, mas apenas a benzocaína apresenta pico de oxidação em $1,20 \text{ V}$; procaína em $1,4 \text{ V}$ e fenacetina em $0,70 \text{ V}$ para fenacetina. Para esse conjunto de compostos, procaína e fenacetina possuem picos de redução específicos $1,5$ e $0,73 \text{ V}$, respectivamente. Ainda no sentido anódico a benzocaína e a lidocaína possuem pico em $1,20 \text{ V}$, mas só a lidocaína possui picos sobrepostos em torno de $0,3$ e um pico específico em $1,4 \text{ V}$ (lidocaína também pode ser confirmada na varredura catódico devido aos picos em $0,3$; 0 e $-0,75 \text{ V}$) adicionalmente apenas a benzocaína possui pico de oxidação em $0,50 \text{ V}$.

No sentido catódico a cafeína, benzocaína e fenacetina, possuem um pico em $0,50 \text{ V}$ sendo que destes apenas a fenacetina possui pico de redução em $0,70 \text{ V}$, apenas cafeína possui picos de oxidação em $1,40 \text{ V}$ e apenas benzocaína possui sobreposição de picos de oxidação entre $1,00$ e $1,20 \text{ V}$.

A partir das informações anteriormente descritas, através dos picos obtidos com as varreduras anódicas e catódicas em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, foi possível desenvolver um possível critério de diagnóstico que está representado no Figura 21.

Figura 21. Esquema do critério de diagnóstico para *screening* eletroquímico em estado sólido por SWV utilizando eletrólito HCl 0,1 mol L⁻¹.



Em termos de comparação, em HCl os picos são bem mais definidos e intensos quando comparado com NaCl e tampão acetato. Isso acontece por que na solução de HCl, o número de prótons livres para reação é maior que em NaCl e tampão acetato. Considerando que em sólidos orgânicos o sinal eletroquímico é gerado através da transferência de prótons entre a solução eletrolítica e a camada externa do sólido (SILVEIRA *et al.*, 2020) é esperado que devido ao contato da fase II sólida com a solução HCl o sinal analítico seja mais intenso uma vez que esse meio é rico em prótons. A intensificação do sinal em conjunto com o aumento do número de picos, dificulta a proposição de método de *screening*, uma vez dificulta identificar os picos característicos de cada composto.

Na Figura 22 e Tabela 9, estão representados os voltamogramas anódicos e os potenciais de oxidação obtidos para cada composto utilizando como eletrólito o H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹.

Figura 22. Voltamogramas anódicos em estado sólido de (a) cafeína, (b) lidocaína, (c) procaína, (d) fenacetina e (e) benzocaína por SWV em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Condições experimentais: E_{inicial} : $-0,8 \text{ V}$; E_{final} : $1,7 \text{ V}$, E_{step} : 4 mV , frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV .

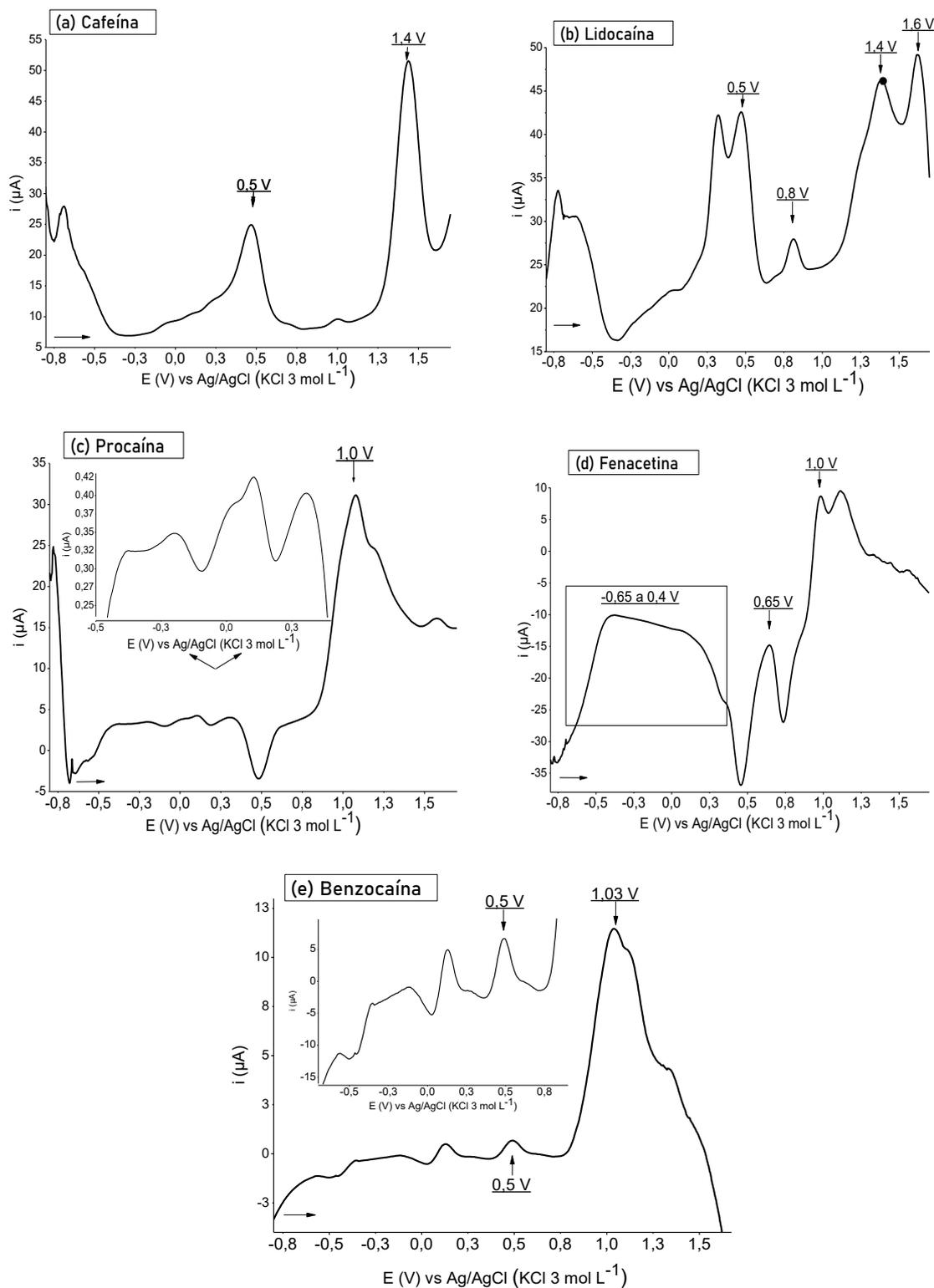


Tabela 10. Potenciais de picos anódicos dos compostos em estado sólido em H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹.

Compostos	Potenciais anódicos (V)																
	-0,58	-0,38	-0,14	0,00	0,10	0,20	0,28	0,35	0,50	0,65	0,70	0,80	1,00	1,10	1,22	1,40	1,60
Cafeína			X	X	X	X	X		X		X		X				X
Lidocaína	X		X	X				X	X		X	X			X	X	X
Procaína		X	X		X		X	X					X	X	X		
Fenacetina		Sobreposição de picos de -0,65 a 0,40									X	X	X	X			
Benzocaína	X	X	X		X		X		X				X	X			X

Na Figura 23 e Tabela 10, estão representados os voltamogramas catódicos e os potenciais de redução obtidos para cada composto utilizando como eletrólito o H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 23- Voltamogramas catódicos em estado sólido de (a) cafeína, (b) lidocaína, (c) procaína, (d) fenacetina e (e) benzocaína por SWV em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Condições experimentais: E_{inicial} : $1,7 \text{ V}$; E_{final} : $-0,8 \text{ V}$, E_{step} : 4 mV , frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV .

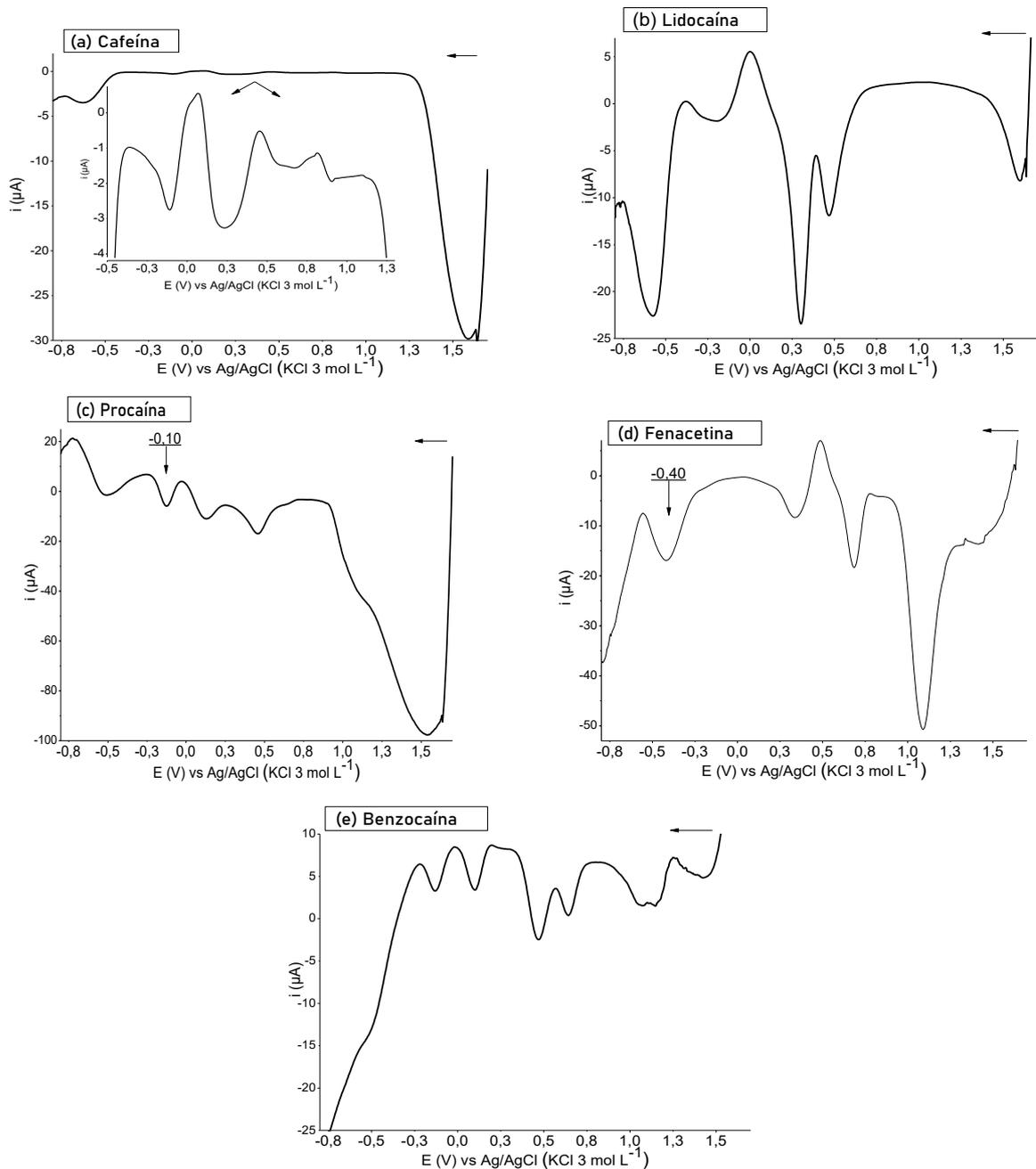
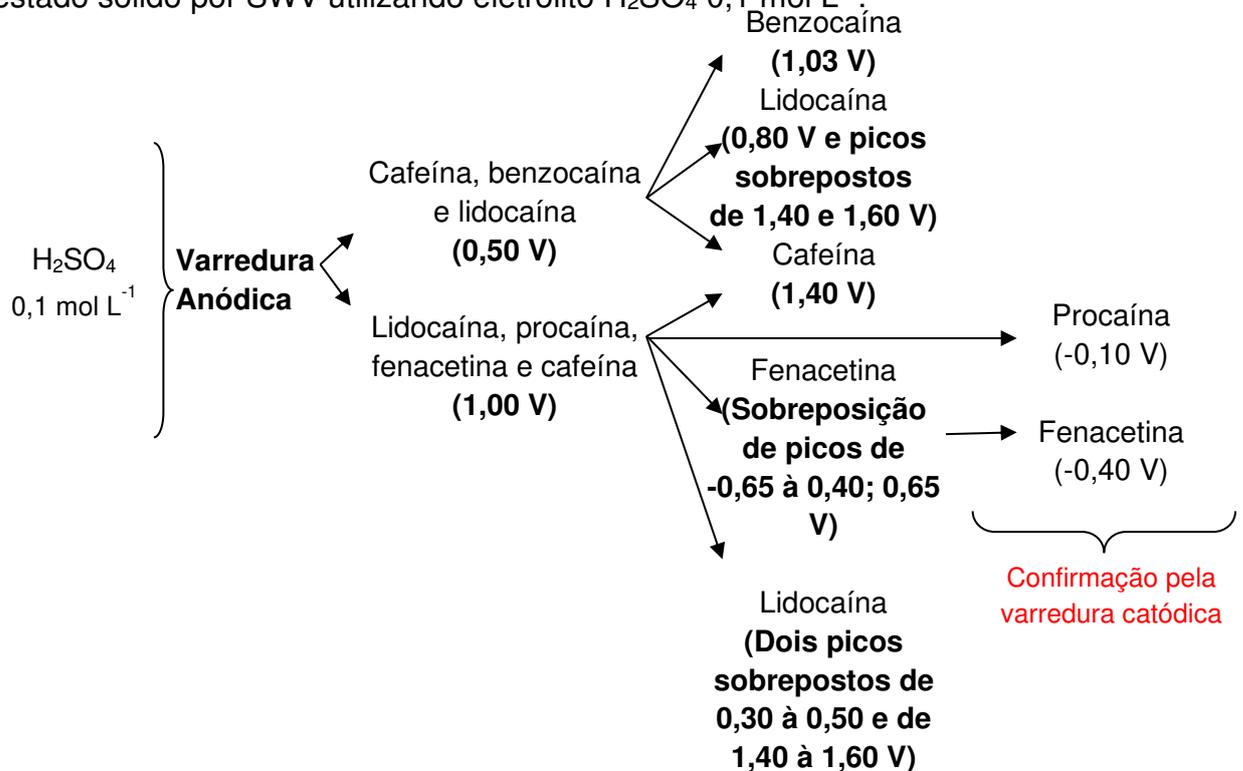


Tabela 11- Potenciais de picos catódicos dos compostos em estado sólido em H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹.

Compostos	Potenciais catódicos (V)													
	1,60	1,40	1,10	0,90	0,70	0,50	0,35	0,20	0,10	-0,10	-0,20	-0,40	-0,50	-0,60
Cafeína	X			X	X	X		X	X	X				X
Lidocaína	X					X	X			X	X			X
Procaína	X				X	X			X	X			X	
Fenacetina		X	X		X		X					X	X	
Benzocaína		X	X		X	X		X	X	X			X	

A partir dos resultados demonstrado nas análises em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi elaborado o critério de diagnóstico que está representado na Figura 24, no qual foi possível identificar os cinco compostos com a varredura no sentido anódico, com confirmação de dois compostos pela varredura catódica (fenacetina e procaína).

Figura 24. Esquema do critério de diagnóstico para screening eletroquímico em estado sólido por SWV utilizando eletrólito H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.



Como pode ser visto nos voltamogramas da Figura 22 e 23, dentre as sobreposições no sentido anódico é possível identificar os compostos cafeína, benzocaína e lidocaína que possuem pico de oxidação em $0,50 \text{ V}$, sendo que apenas a benzocaína possui pico de oxidação $1,03 \text{ V}$, lidocaína em $0,80 \text{ V}$ e sobreposição de picos de $1,40$ à $1,60 \text{ V}$ assim como cafeína em $1,44 \text{ V}$. Adicionalmente lidocaína, procaína fenacetina e cafeína possuem pico de oxidação em $1,00 \text{ V}$, sendo que apenas cafeína possui pico de oxidação em $1,44 \text{ V}$, fenacetina em $0,65 \text{ V}$ e

sobreposição de picos de -0,65 à 0,40 V (confirmada no sentido catódico com pico em -0,40 V) e lidocaína com picos sobrepostos de 0,30 à 0,50 V e 1,40 a 1,60 V. Adicionalmente, a procaína só pode ser identificada na varredura catódica pelo pico em - 0,10 V.

Em termos eletroquímicos os dois eletrólitos ácidos são os eletrólitos que têm os picos melhor definidos e com maior número de picos, mas esse excesso sinais voltamétricos informação atrapalha na definição dos parâmetros qualitativos.

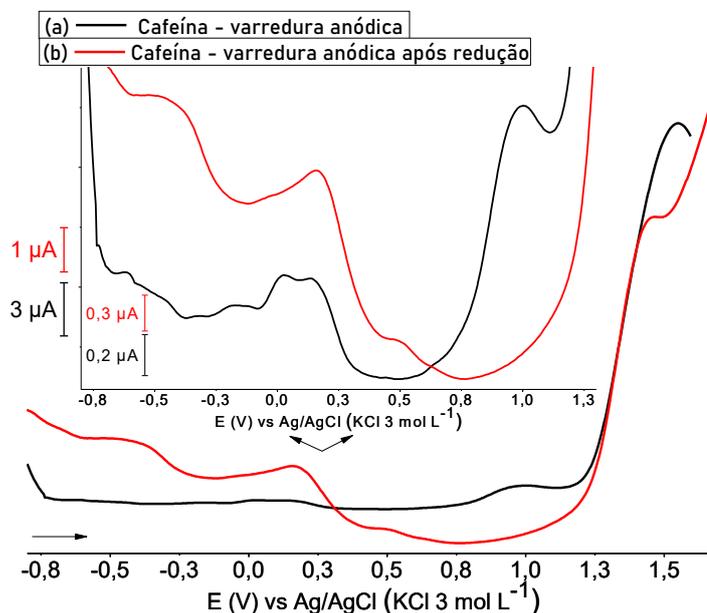
Em termos de comparação, todos os eletrólitos podem ser utilizados para *screening*, entretanto, os resultados indicam a solução tampão acetato como o melhor eletrólito, considerando os objetivos deste trabalho, pois permite distinguir todos os compostos na varredura catódica com confirmação apenas da fenacetina no sentido anódico. Enquanto, o eletrólito solução NaCl, embora apresente perfil seletivo para os compostos analisados necessita de mais confirmações em varreduras de retorno para lidocaína e procaína. Desta maneira os experimentos subsequentes foram realizados em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹, em pH 5.

5.2. Avaliação das respostas voltamétricas dos compostos previamente oxidados e reduzidos.

Para melhor entender os processos de oxidação e redução dos compostos em estado sólido, os compostos além de analisado no sentido anódico e catódico também foram analisados no sentido anódico após varredura catódica e no sentido catódico após varredura anódica em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹, em pH 5.

Na Figura 25 estão demonstrados os voltamogramas anódicos da cafeína em estado sólido, em (a) está representado o voltamograma da cafeína oxidada e em (b) está representado o voltamograma da cafeína oxidada depois de ser previamente reduzida.

Figura 25- Voltamograma anódico da cafeína (a) antes e (b) após redução, obtidos por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial} : -0,8 V; E_{final} : 1,7 V, E_{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV



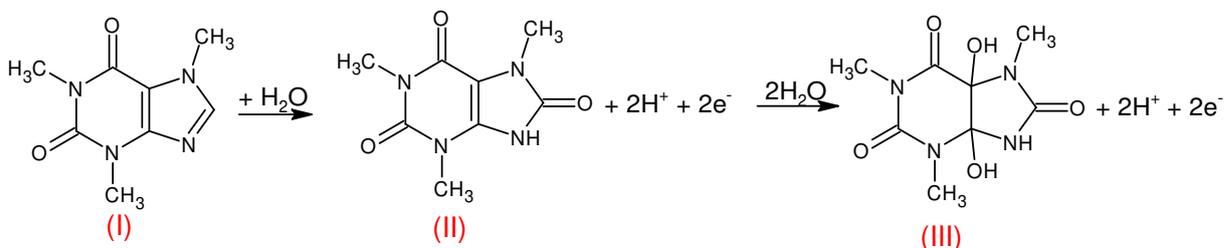
Fonte: Autor

Como pode ser observado houve uma mudança no perfil de oxidação da cafeína depois do composto ser previamente reduzido em (b) diminuindo o número de picos. No voltamograma (a) próximo a -0,4 V há sobreposição de picos, no voltamograma (b) apenas um pico é registrado, esses picos (em (a) e (b)) em -0,4 V são referentes a oxidação dos nitrogênios levando a perda das ligações N-H (DOMÉNECH; DOMÉNECH-CARBÓ, 2006) presentes no anel de pirimidinodiona, uma vez que a redução da molécula de cafeína e assim formar uma ligação N-H.

Na região mais positiva dos voltamogramas (a) e (b) ocorre a formação do pico principal próximo a 1,5 V, esse pico é atribuído a oxidação da cafeína a um análogo 4-5 diol (JONG *et al.*, 2016). O mecanismo de oxidação da cafeína que gera o pico em principal (próximo a 1,5 V) inicia com a adição de uma molécula de água a cafeína (I) oxidando a dupla ligação entre C-8 e N-9 liberando $2e^-$ e $2H^+$ e formando ácido trimetilúrico (II), em seguida há consumo de duas moléculas de água seguido da oxidação da dupla ligação entre o C4 e C5 e adição de dois grupos hidroxila na molécula oxidada e liberação de dois prótons e dois elétrons, gerando o ácido úrico-

4, 5-diol (III) (HANSEN; DRYHURST, 1971). O mecanismo pode ser visto na Figura 26.

Figura 26. Esquema de reação da oxidação de cafeína, adaptado de Hansen e Dryhurst



Fonte: HANSEN; DRYHURST, 1971

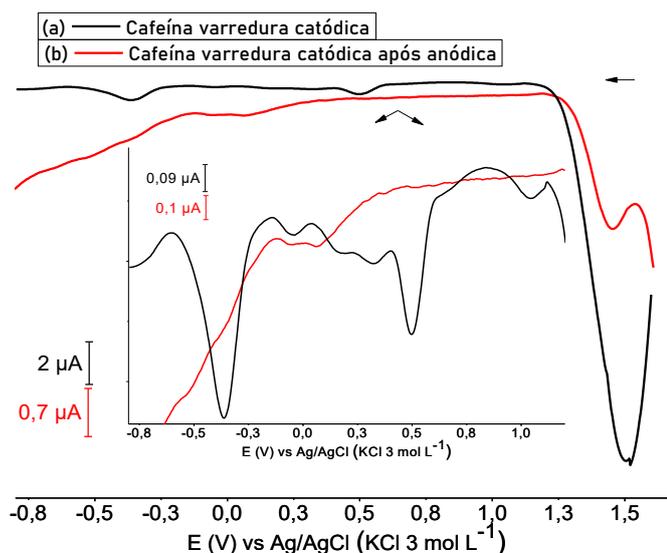
O pico em 1 V está presente apenas na varredura anódica sem redução prévia. O desaparecimento destes picos pode acontecer por dois motivos, ou porque os centros eletroativos da cafeína que se oxidam na varredura anódica são os mesmos que se reduziram na pré-varredura catódica, logo não estão mais disponíveis para a oxidação, ou porque esse pico que é proveniente de uma reação em estado sólido e por conta da cafeína ser solúvel em solução aquosa somado ao tempo que a amostra fica em contato com o tampão, é possível que a amostra se solubilize e o pico em estado sólido não seja registrado. Levando em consideração que o potencial do pico principal da cafeína (1,5 V) ocorre na região da amina secundária, logo esse agrupamento não estaria disponível para reação é provável que o centro eletroativo que gera o pico em 1 V seja o da amina terciária, (o que estaria de acordo com a literatura uma vez que aminas terciárias oxidam no potencial próximo a 1 V (JONG *et al.*, 2016) uma vez que essa região é a mais propícia para reação, levando em consideração que os nitrogênios das amidas do anel de pirimidiodiona estão próximos do oxigênio o que dificultaria possíveis reações nessa região (região das imidas).

Na busca do referencial teórico para esse trabalho foram encontrados diversos artigos que tratam da oxidação eletroquímica da cafeína em solução, mas poucos associam os picos encontrados a regiões da oxidação da molécula e todo eles na grande maioria relatam a oxidação da cafeína que gera o pico principal 1,5 V

(LOURENÇÃO *et al.*, 2009; KHOO; PUMERA; BONANNI, 2013; BALAJI *et al.*, 2020). Mesmo no trabalho de Jong e colaboradores que analisaram a cafeína em estado sólido, apenas o pico principal em 1,5 foi registrado (JONG *et al.*, 2016). Desta maneira, estudos mais aprofundados se fazem necessários para entender e elucidar o mecanismo de oxidação da cafeína em estado sólido.

Na Figura 27 estão demonstrados os voltamogramas catódicos da cafeína em estado sólido, em (a) está representado o voltamograma da cafeína reduzida e em (b) está representado o voltamograma da cafeína reduzida depois de ser previamente oxidada.

Figura 27. Voltamograma catódico da cafeína (a) antes e (b) após oxidação obtidos por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial} : 1,7 V; E_{final} : -0,8 V, E_{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV

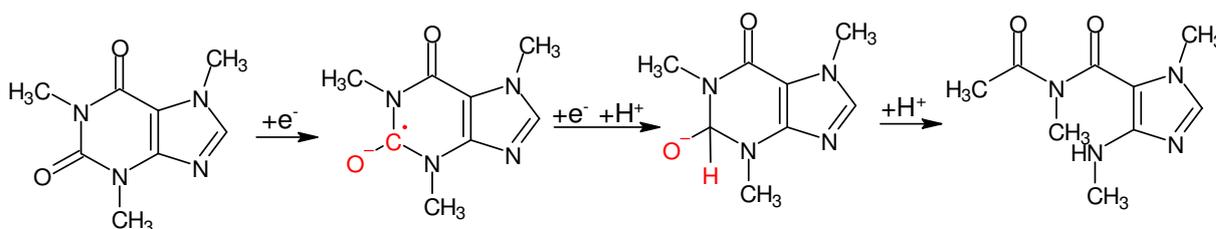


Fonte: Autor

Na varredura catódica da cafeína após a oxidação prévia do composto houve mudança do perfil do voltamograma, sendo que os únicos picos que se mantiveram no mesmo potencial antes e após a eletrólise foram os picos em 1,5 V e em 0,05 V. O pico principal de redução da cafeína em próximo a 1,5 V pode ser atribuído a redução catódica na região da ligação C=O resultando na abertura do anel de pirimidiodiona

(PANDOLFI *et al.*, 2019), representado no possível mecanismo de reação na Figura 28.

Figura 28- Possível mecanismo para a redução da cafeína.



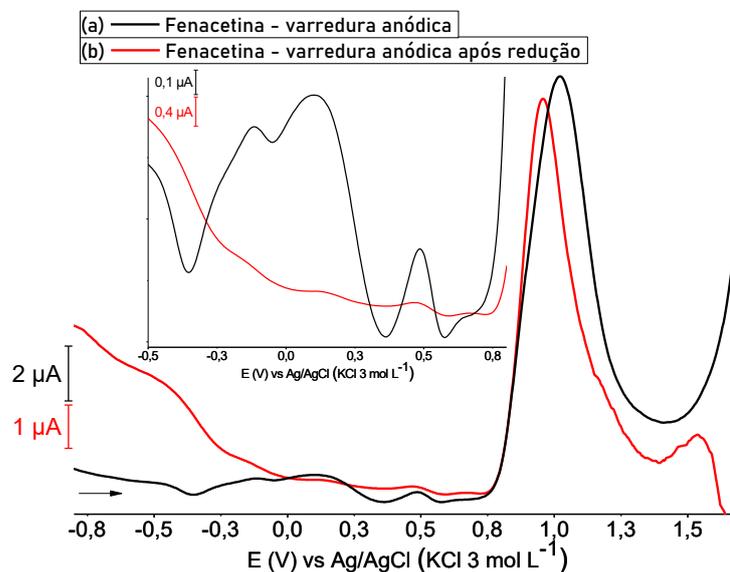
Fonte: PANDOLFI *et al.*, 2019

O pico em 1 V como será mostrado mais adiante é um pico que só foi identificado nas varreduras em estado sólido, logo, acredita-se que esse é um pico genuinamente em estado sólido, ademais não foi encontrado na literatura nenhum trabalho que identifique o pico em 1V para a análise de cafeína.

Ao pico registrado em -0,35 V atribuiu-se a redução das carbonila do anel de pirimidiodiona, sendo que similarmente Doménech-Carbó e colaborador relatam que esta região é de redução de carbonilas em anéis pirrolidínicos, os quais atribuíram o pico a redução da carbonila levando a formação das ligações -O-H (DOMÉNECH; DOMÉNECH-CARBÓ, 2006). Reforçando tal afirmação o trabalho de Komorsky-Lovrić e colaboradores também atribuíram o pico próximo a -0,4 V à redução do C=O de compostos orgânicos, os quais foram atribuídos a redução do C=O da quinidrona a C-OH, hidroquinona (KOMORSKY-LOVRIĆ; MIRČESKI; SCHOLZ, 1999)

A Figura 29 demonstra os voltamogramas anódicos da fenacetina em estado sólido. Em (a) está representado o voltamograma da fenacetina oxidada e em (b) está representado o voltamograma da fenacetina oxidada depois de ser previamente reduzida.

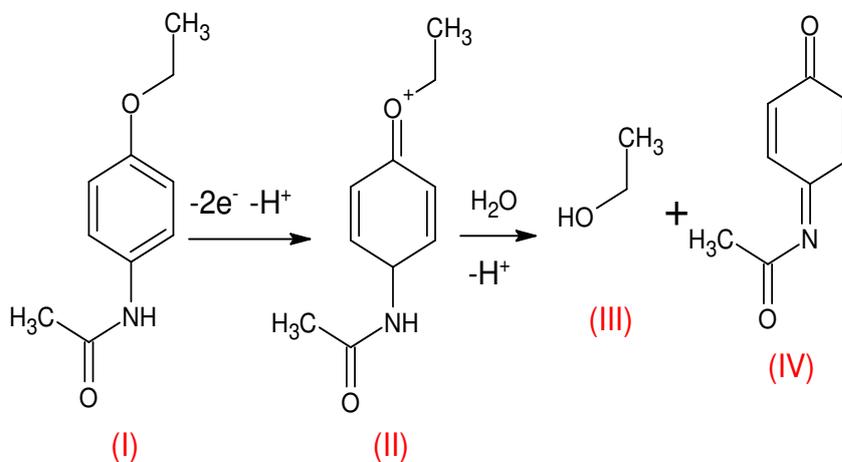
Figura 29- Voltamograma anódico da fenacetina (a) antes e (b) após redução, obtidos por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial} : $-0,8 \text{ V}$; E_{final} : $1,7 \text{ V}$, E_{step} : 4 mV , frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV .



Fonte: Autor

O perfil do voltamograma da fenacetina previamente reduzida e depois oxidada (b) ficou um pouco diferente do voltamograma onde a fenacetina só passou pelo processo de oxidação. O pico principal de oxidação da fenacetina, próximo a 1 V , manteve-se em (a) e (b), esse pico é referente a oxidação da fenacetina (I) a N-acetil-p-benzoquinonaimina (IV). Essa oxidação acontece em mais de uma etapa, primeiro há a formação de um intermediário (II) através da reação eletroquímica que em seguida sofre um ataque nucleofílico e forma N-acetilp-benzoquinonaimina (IV) e álcool(III) (BUSSY *et al.*, 2013a; SALLES; ARAUJO; PAIXÃO, 2016), como mostrado na Figura 30.

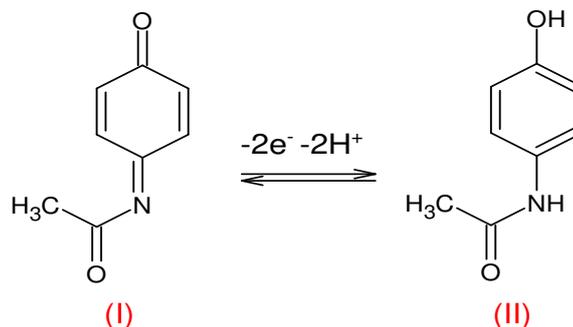
Figura 30- Esquema da reação de oxidação da fenacetina adaptado de Salles e colaboradores, 2016.



Fonte: SALLES; ARAUJO; PAIXÃO, 2016

Onde em (a) podia ser visto uma sobreposição de picos -0,4 e 0,4 V bem definidos, em (b) esses picos ficaram bem menos intensos e quase desapareceram. O mesmo acontece com o pico em 0,5 V o que leva a crer que a região onde acontece as oxidações que formam esse pico em (a) foram reduzidas pela pré varredura catódica em (b) impossibilitando a futura oxidação. O pico gerado em 0,5 V é referente a oxidação da N-acetil-p-benzoquinonaimina (I) a paracetamol (II)(JONG *et al.*, 2016) (representado na Figura 31). O pico formado próximo a 0 V (sobreposição de -0,2 a 0,2 V) pode ser atribuído a oxidação da região do 4-aminofenol presente na estrutura de paracetamol (JONG *et al.*, 2016).

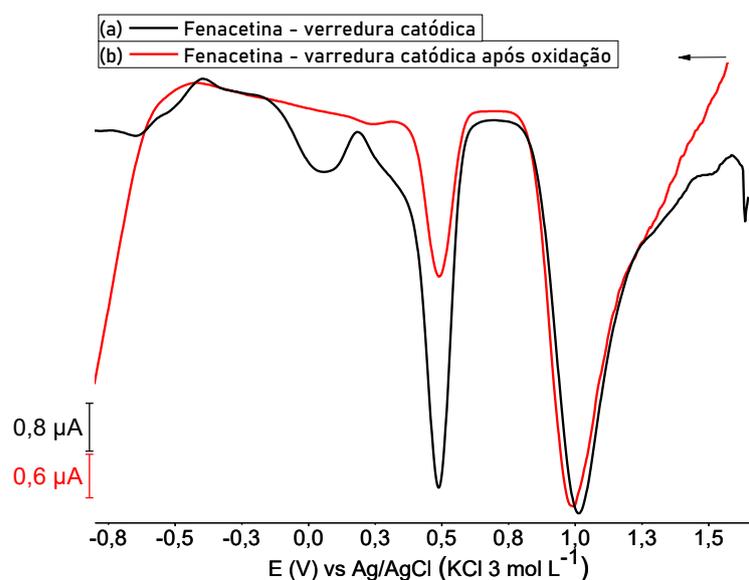
Figura 31- Mecanismo de oxidação/redução eletroquímico do N-acetil-p-benzoquinonaimina (I) a paracetamol (II). Adaptado de Salles e colaboradores.



Fonte: SALLES; ARAUJO; PAIXÃO, 2016.

A Figura 32, demonstra os voltamogramas catódicos da fenacetina em estado sólido. Em (a) está representado o voltamograma da fenacetina reduzida e em (b) está representado o voltamograma da fenacetina reduzida depois de ser previamente oxidada.

Figura 32- Voltamograma catódico da fenacetina (a) antes e (b) após oxidação obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial}: 1,7 V; E_{final}: -0,8 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.

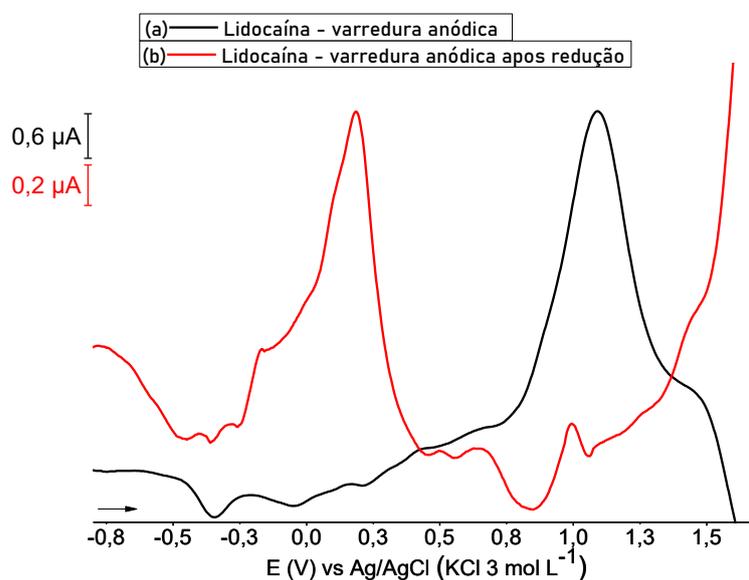


Fonte: Autor

O perfil da fenacetina reduzida após passar pelo processo oxidativo visto no voltamograma (b) é muito parecido com o voltamograma da fenacetina que não passou previamente pelo processo oxidativo antes da redução(a) com exceção do pico em 0 V que só apareceu no voltamograma (a). O pico em 1 V é gerado pela redução da fenacetina a N-acetil-p-benzoquinona e essa redução acontece no mesmo centro eletro ativo do oxigênio ligado ao fenol já o pico em 0,5 V pode ser atribuído à redução N-acetil-p-benzoquinona a acetaminofeno e o pico em 0,2 refere-se à redução da p-benzoquinona em hidroquinona. (ÖZCAN; ŞAHIN, 2011; SALLES; ARAUJO; PAIXÃO, 2016).

Na Figura 33 estão demonstrados os voltamogramas anódicos da lidocaína em estado sólido, em (a) está representado o voltamograma da lidocaína oxidada e em (b) está representado o voltamograma da lidocaína oxidada depois de ser previamente reduzida.

Figura 33- Voltamograma anódico da lidocaína (a) antes e (b) após redução, obtidos por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial} : -0,8 V; E_{final} : 1,7 V, E_{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.

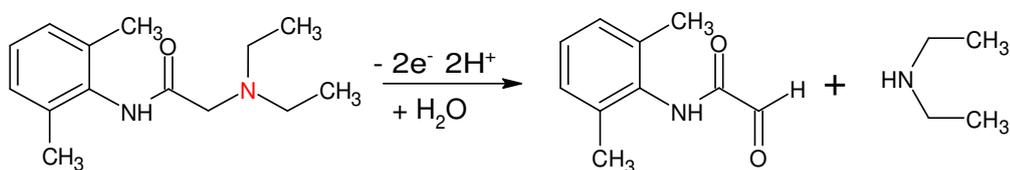


Fonte: Autor

O voltamograma anódico da lidocaína após redução tem um perfil bem diferente do voltamograma da lidocaína diretamente oxidada (a). A principal mudança é o pico próximo a 0,2 V que em (b) ficou bem intenso quando comparado com o voltamograma (a). Além disso, à medida que o pico em 0,2 V em (b) tem sua corrente de pico aumentada o pico em próximo a 1 V tem sua corrente de pico diminuída. O pico da lidocaína próximo a 1 V apesar de estar presente nos dois voltamogramas, ficou menos intenso na varredura anódica após redução prévia (b) o que leva a crer que o grupamento amina terciária que está se oxidando e gerando esse sinal intenso em (a) pode também estar participando da redução na pré-varredura catódica, diminuindo a intensidade do sinal quando esse é oxidado.

Esse sinal em próximo 1 V já foi identificado para a lidocaína em estado sólido por Jong e colaboradores os quais atribuíram o pico a oxidação dos grupos funcionais da amina terciária da estrutura da lidocaína (JONG *et al.*, 2016) . Como demonstrado na figura 34, essa reação de oxidação é mais provável de acontecer na amina, por que a amida presente na estrutura está próxima aos grupos aromáticos que atuam como retiradores de elétrons, o que dificulta a oxidação do grupamento (amida). Em contrapartida o grupo doador de elétrons (etil) facilitam a oxidação do grupamento amina, o produto dessa eletrooxidação seriam aminas secundárias e aldeídos (RAHBAR; RAMEZANI; GHANAVATI, 2016).

Figura 34- Esquema de reação da oxidação da lidocaína, adaptado de Rahbar e colaboradores.



Fonte: RAHBAR; RAMEZANI; BABAPOUR, 2015

Outra questão que deve ser levado em consideração é o deslocamento dos picos para região negativa. O pico principal tem seu ponto mais alto localizado em

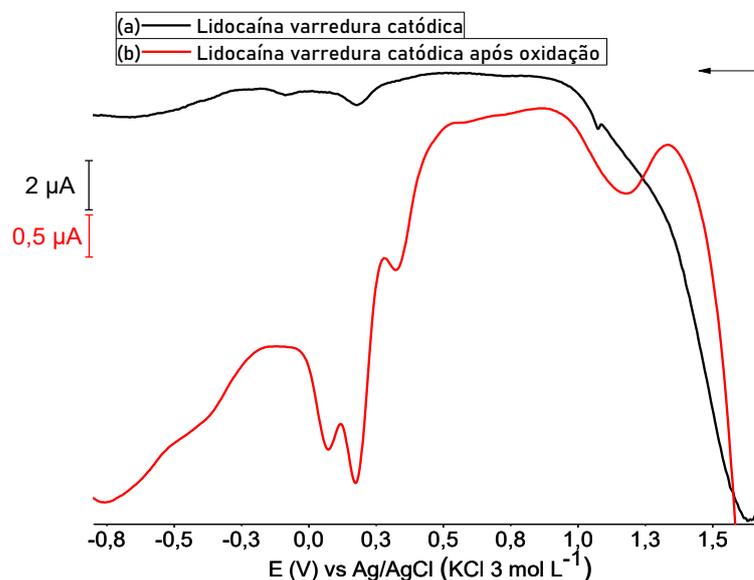
exatamente 1,09 V no voltamograma (a) e em exatamente 0,99 em (b), um deslocamento de 0,10 V e isso pode estar acontecendo devido a solubilização da lidocaína no eletrólito (nos resultados encontrados para lidocaína em solução (Figura 49) o pico principal foi encontrado em 1 V. Levando em consideração que a lidocaína é muito solúvel em água somado ao tempo de análise que é maior para a oxidação em (b) onde o composto precisa ser primeiro reduzido para depois ser oxidado, o mesmo passa mais tempo em contato com o eletrólito, desta maneira o deslocamento de pico pode estar acontecendo devido a solubilização da lidocaína.

O pico próximo a 0,2 V aumentou a intensidade à medida que o pico em 1 V diminuiu a intensidade em (b) como mencionado anteriormente. Provavelmente esse pico é gerado a partir da oxidação dos produtos da redução, levando em consideração que a redução da lidocaína acontece na região da ligação $C=O$ formando uma ligação C-OH, somado ao deslocamento de pico para região mais negativas, é provável que o pico em 0,2 V seja referente a processos de oxidação de hidroxilas a carbonila sendo tal processo já descrito em potenciais de 0,25 e 0,4 V (DOMÉNECH-CARBÓ *et al.*, 2010)

O pico em 0,7 V presente em (a) e (b), mas que fica mais evidente em (b) pois em (a) o pico principal em 1 V se sobrepõe a ele mascarando o sinal, uma vez que em (b) o pico em 1V fica menos intenso o pico em 0,7 fica mais definido. Esse pico em 0,7 V já foi relatado por Masui e colaboradores, os quais atribuíram o sinal à oxidação da trietilamina (MASUI; TSUDA, 1967)

Na Figura 35 estão demonstrados os voltamogramas catódicos da lidocaína em estado sólido, em (a) está representado o voltamograma da lidocaína reduzida e em (b) está representado o voltamograma da lidocaína reduzida depois de ser previamente oxidada.

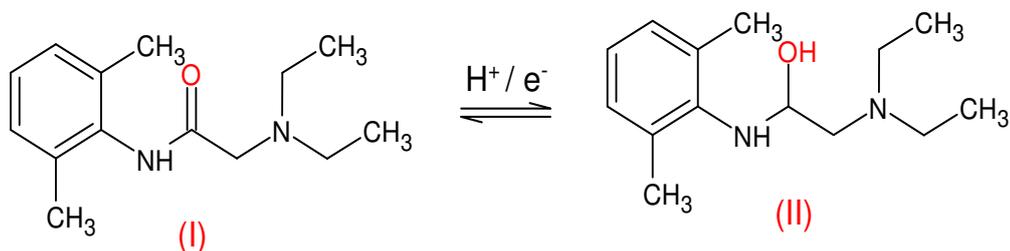
Figura 35- Voltamograma catódico da lidocaína (a) antes e (b) após oxidação obtidos por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial} : $1,7 \text{ V}$; E_{final} : $-0,8 \text{ V}$, E_{step} : 4 mV , frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV .



Fonte: Autor

A varredura catódica após a oxidação da lidocaína (b) mudou bastante o perfil do voltamograma quando comparado com o voltamograma catódico da lidocaína (a). O pico em $1,65 \text{ V}$ no voltamograma (a) se deslocou para a região positiva para próximo a $1,3 \text{ V}$. Durante a descrição do estado da arte deste trabalho não encontrei nenhum trabalho na literatura que descreva com exatidão o mecanismo de redução da lidocaína, mas uma vez que a estrutura da molécula de lidocaína é muito parecida com a estrutura da molécula de cocaína, cujo mecanismo de redução já foi descrito Castro e colaboradores (CASTRO *et al.*, 2020), é possível inferir que como demonstrado na Figura 36, a redução da $\text{C}=\text{O}$ da lidocaína (I) à $\text{C}-\text{OH}$, forma lidocaína reduzida (2-dimetilamino-1-[(2,6-dimetilfenil)amino] (II) sendo essa eletroredução a responsável pelo sinal principal (próximo a $1,65 \text{ V}$ em (a) e $1,3 \text{ V}$ em (b)).

Figura 36- Esquema ilustrativo da redução da molécula de lidocaína (adaptado a partir do mecanismo de redução da cocaína proposto por Castro e colaboradores).

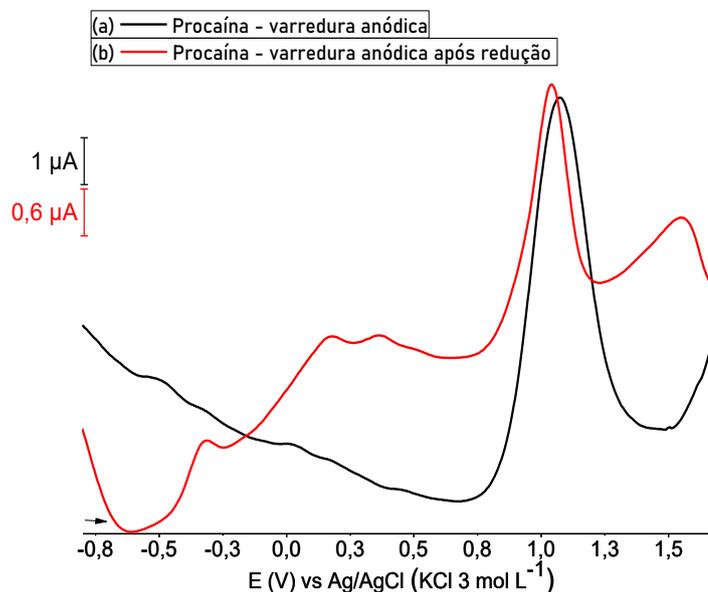


Fonte: CASTRO *et al.*, 2020

O pico em 0,31 só aparece no voltamograma (b) o que sugere que este pico seja referente a redução dos produtos da pré oxidação, que podem ser aminas secundárias ou aldeídos. Levando em consideração que a redução do aldeído só acontece em potenciais abaixo de -2 V (ZHANG *et al.*, 2021), é provável que esse pico seja referente a redução da amina secundária.

Na Figura 37 estão demonstrados os voltamogramas anódicos da procaína em estado sólido. Em (a) está representado o voltamograma da procaína oxidada e em (b) está representado o voltamograma da procaína oxidada depois de ser previamente reduzida.

Figura 37- Voltamograma anódico da procaína (a) antes e (b) após redução obtidos por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial} : -0,8 V; E_{final} : 1,7 V, E_{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.



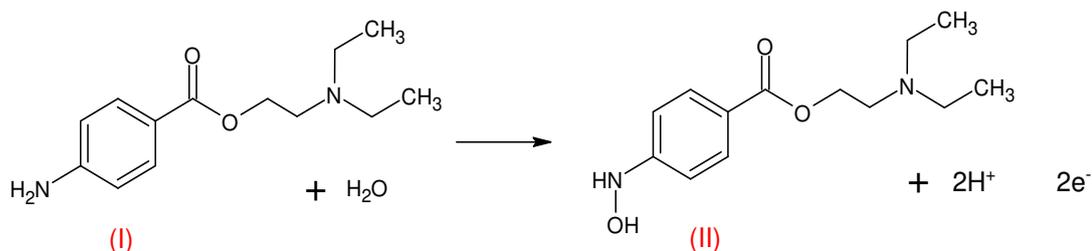
Fonte: Autor

Como pode ser visto na Figura 36 o perfil de oxidação da procaína mudou depois de passar pela pré varredura catódica e é possível ver picos em 0,2 e 0,4 V no voltamograma (b) não são vistos em (a). Esses picos são relativos a oxidação dos produtos da redução da procaína que são radicais $^*\text{C-OH}$, como já mencionados anteriormente, sendo os processos de oxidação de hidroxilas registrados em de 0,25 e 0,40 V (DOMÉNECH-CARBÓ *et al.*, 2010). Esses produtos se formaram na pré-varredura catódica e então são oxidados na varredura anódica dando origem a os picos (0,2 e 0,4 V).

O pico principal da procaína próximo a 1 V está presente em (a) e (b), mas ocorreu uma diminuição na intensidade do pico em (b). De acordo com Jong e colaboradores o sinal em 1 V é proveniente da oxidação da região do centro eletroativo da amina primária (JONG *et al.*, 2016). Segundo o mecanismo em solução o pico em 1 V refere-se a oxidação do grupamento amino da procaína (I) a hidroxilamina (II) e

esse processo envolve dois elétrons e dois prótons (SILVA; SALLES; PAIXÃO, 2015) como demonstrado na Figura 38.

Figura 38- Esquema de reação da oxidação da procaína.

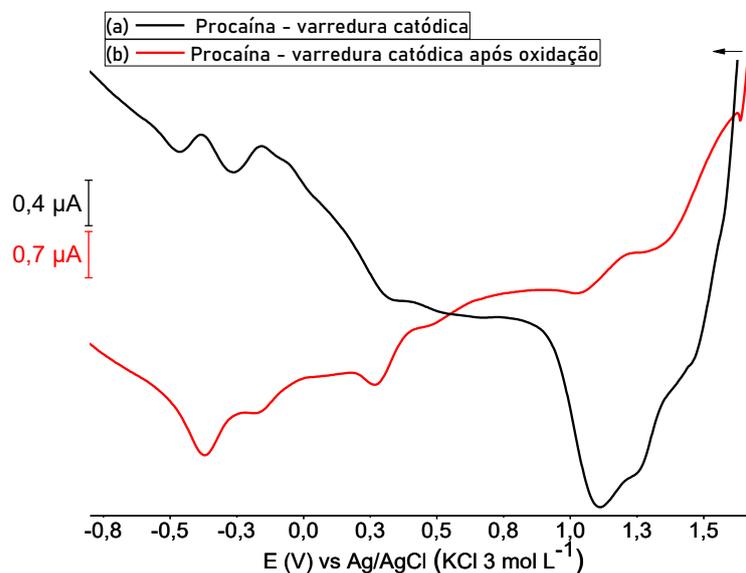


Fonte: SILVA; SALLES; PAIXÃO, 2015

A diminuição da intensidade do sinal pode estar relacionada a solubilidade da procaína em água, uma vez que no voltamograma (b) a procaína passa por uma pré-varredura catódica fica mais tempo em contato com o eletrólito aquoso, diminuindo a intensidade do sinal. Uma vez que a solubilidade do composto pode influenciar na resposta voltamétrica dos analitos sólidos imobilizados no eletrodo, principalmente porque espécies moderadamente solúveis podem sofrer reações eletroquímicas em solução (DURIGON *et al.*, 2020)

A Figura 39, demonstra os voltamogramas catódicos da procaína em estado sólido. Em (a) está representado o voltamograma da procaína reduzida e em (b) está representado o voltamograma da procaína reduzida depois de ser previamente oxidada.

Figura 39- Voltamograma catódico da procaína (a) antes e (b) após oxidação obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial}: 1,7 V; E_{final}: -0,8 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.

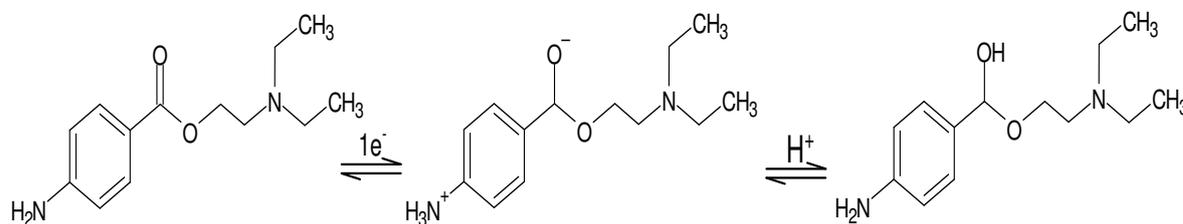


Fonte: Autor

Na Figura 39 o voltamograma catódico da procaína (a) possui um pico bem intenso em 1,10 V, e no voltamograma catódico após a oxidação (b), esse pico ficou bem menos intenso. O mecanismo de redução da procaína pode ser associado ao que ocorre na cocaína uma vez que estes compostos são análogos, possuindo uma estrutura molecular muito parecida, isso fica evidente pois o pico de redução encontrado para a cocaína é o mesmo encontrado para procaína (KOMORSKY-LOVRIĆ; GALIĆ; PENOVSKI, 1999; KOMORSKY-LOVRIĆ; VUKAŠINOVIĆ; PENOVSKI, 2003).

O mecanismo de redução da procaína que gera o pico em 1 V pode ser adaptado a partir do mecanismo de redução da cocaína o qual é descrito supondo que o radical *C-OH aparecem como produto da redução do grupo C=O estabilizando pela interação de seus elétrons livres com os elétrons π da estrutura de grafite (KOMORSKY-LOVRIĆ; GALIĆ; PENOVSKI, 1999) o esquema de redução da procaína pode ser visto na Figura 40.

Figura 40- Esquema ilustrativo da redução da molécula de procaína (adaptado a partir do mecanismo de redução da cocaína proposto por Castro e colaboradores).



Fonte: CASTRO *et al.*, 2020

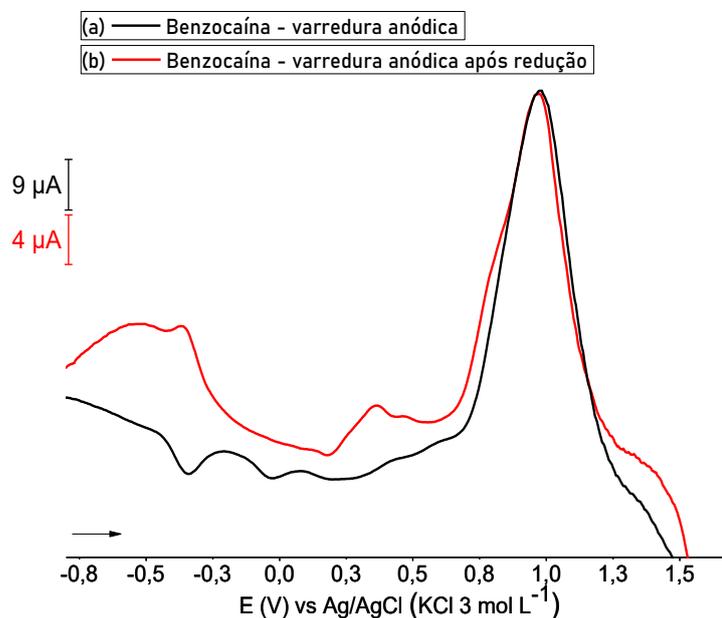
O pico em 0,3 V manteve-se no mesmo potencial em (a) e (b) e segundo Lovic e colaboradores, essa pico pode ser atribuído a redução reversível da dupla ligação dos grupamentos de carbonila (DOMÉNECH; DOMÉNECH-CARBÓ, 2006).

Há também uma sobreposição de picos em -0,5 e -0,25 V em (a) sendo deslocados para -0,38 e -0,17 V em (b). Lovric e colaboradores já relataram picos de redução para compostos orgânicos nessa região atribuindo os picos a processo de redução de compostos -OH (KOMORSKY-LOVRIĆ; MIRČESKI; SCHOLZ, 1999)

A diminuição da intensidade dos sinais aqui observados também está ligado ao caráter solúvel da procaína. Desta maneira a resposta do sinal é diminuído conforme as micropartículas são gradualmente dissolvidas no eletrólito (DURIGON *et al.*, 2020) (KOMORSKY-LOVRIĆ; MIRČESKI; SCHOLZ, 1999)

A Figura 41 demonstra os voltamogramas anódicos da benzocaína em estado sólido. Em (a) está representado o voltamograma da benzocaína oxidada e em (b) está representado o voltamograma da benzocaína oxidada depois de ser previamente reduzida.

Figura 41- Voltamograma anódico da benzocaína (a) antes e (b) após redução obtidos por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial} : -0,8 V; E_{final} : 1,7 V, E_{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.



Fonte: Autor

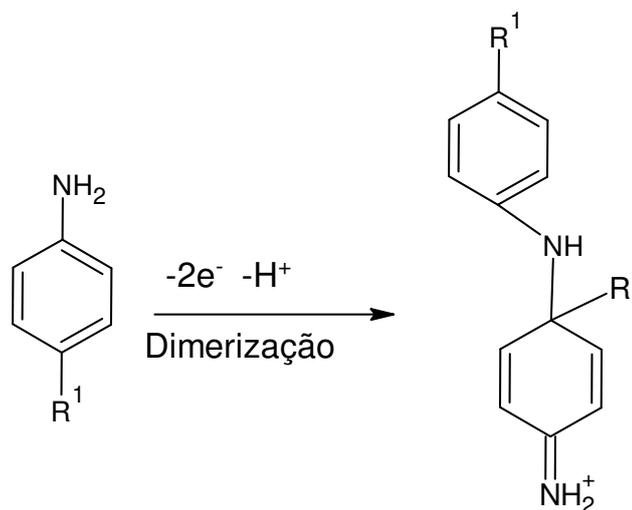
Na varredura anódica da benzocaína (a) há a formação de pico próximo a -0,3 e 0,1 V picos esses que não aparecem na varredura anódica após a redução da benzocaína (b). Provavelmente isso aconteceu porque os centros eletroativos responsáveis por esses picos foram reduzidos na varredura catódica.

Em (b) há uma sobreposição de picos próximo a 0,4 V que não aparece em (a) e esses picos são provenientes dos produtos da pré redução da benzocaína, por isso não aparecem em (a). Acredita que são radicais $\cdot\text{C-OH}$, como já mencionados anteriormente os processos de oxidação de hidroxilas, que são registrados em potencial de 0,25 e 0,40 V (DOMÉNECH-CARBÓ *et al.*, 2010).

O pico em 1 V da oxidação da benzocaína (I) está presente em (a) e (b) e esse pico é referente a oxidação dos grupos da amina primária (região da p-aminobenzóico) e os produtos da reação são cátions radicais do grupo anilina, representado na Figura

42 (PYSAREVSKA *et al.*, 2018; KOMORSKY-LOVRIĆ; VUKAŠINOVIĆ; PENOVSKI, 2003; JONG *et al.*, 2016).

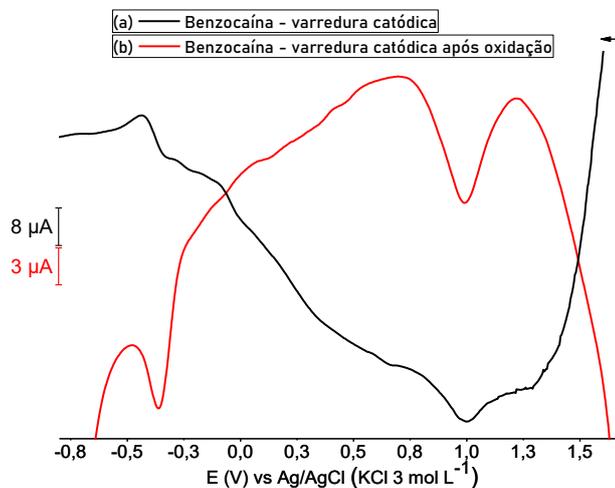
Figura 42- Possível mecanismo de oxidação da benzocaína



Fonte: PYSAREVSKA *et al.*, 2018

A Figura 43 demonstra os voltamogramas catódicos da benzocaína em estado sólido. Em (a) está representado o voltamograma da benzocaína reduzida e em (b) está representado o voltamograma da benzocaína reduzida depois de ser previamente oxidada.

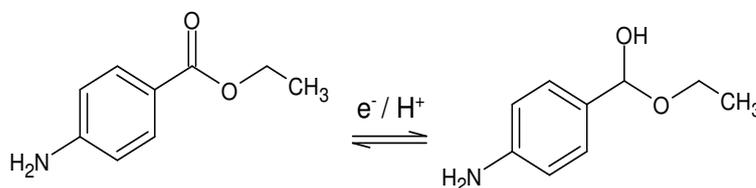
Figura 43- Voltamograma catódico da benzocaína (a) antes e (b) após oxidação obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial}: 1,7 V; E_{final}:-0,8 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.



Fonte: Autor

A redução da benzocaína (a), gerou um perfil de voltamograma um pouco diferente da benzocaína que passou pela pré-redução (b). O pico principal manteve-se no mesmo potencial (1 V), assim como na lidocaína e procaína esse pico refere-se à redução da C=O formando a hidroxila C-OH como demonstrado na Figura 44.

Figura 44- Esquema ilustrativo da redução da molécula de procaína (adaptado a partir do mecanismo de redução da cocaína proposto por Castro e colaboradores).



Fonte: CASTRO *et al.*, 2020

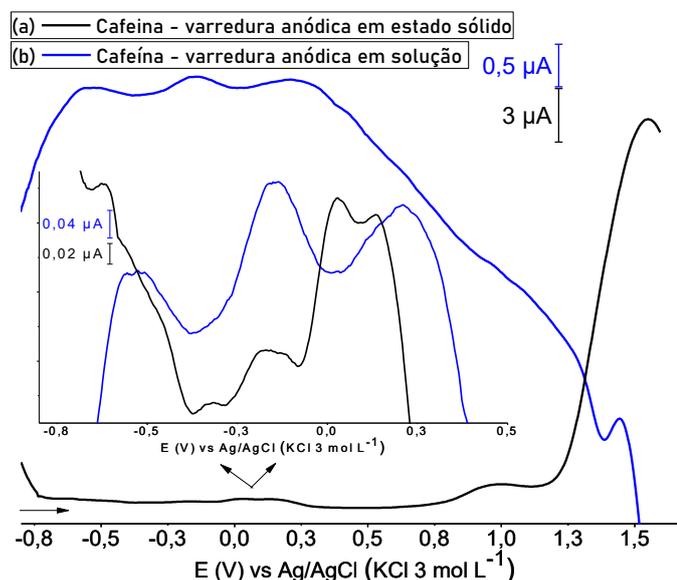
5.3. Análise em solução

5.3.1. Comparação das respostas voltamétricas dos compostos em estado sólido e em solução.

Nas Figuras de 45 a 54, estão representadas as análises dos compostos em estado sólido em (a) e em solução em (b). Os voltamogramas em solução foram obtidos por SWV no sentido anódico e catódico contendo 2,4 mg L⁻¹ do composto em 20 mL de eletrólito tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 5.

Na Figura 45 está representado o voltamograma anódico da cafeína em estado sólido (a) e em solução (b).

Figura 45- Voltamogramas anódicos da cafeína, (a) em estado sólido, (b) em solução, obtidos por SWV em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 5 em potencial de -0,8 a 1,7 V. Condições experimentais: E_{inicial}: -0,8 V; E_{final}: 1,7 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.



Fonte: Autor

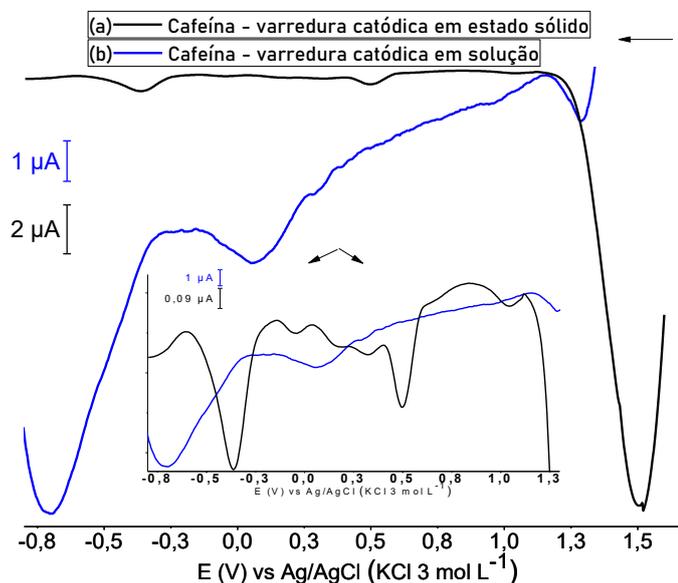
Como pode ser observado em estado sólido e em solução foram registrados os mesmos picos em aproximadamente -0,57; -0,18; 0,21 e 1,5 V, logo, esses picos

provavelmente são referentes a reações que ocorrem em solução. Em aproximadamente -0,32; 0,02 e 1,0 V foram registrados picos em estado sólido que não foram registrados em solução, desta maneira, provavelmente esses são picos são referentes a reações que ocorrem genuinamente em estado sólido.

O pico principal registrado para cafeína próximo a 1,50 V é o mesmo pico em estado sólido e em solução, sugerindo que o processo oxidativo está acontecendo em solução. Reforçando tal afirmação esse pico em 1,50 V já foi já foi registrado para análises em solução por outros trabalhos (HANSEN; DRYHURST, 1971; JONG *et al.*, 2016). Processos redox em estado sólido para compostos orgânicos solúveis ou parcialmente solúveis em soluções aquosa podem ser acompanhadas por reações em solução uma vez que o composto ao entrar em contato com a solução é parcialmente solubilizado (DOMÉNECH-CARBÓ; DIAS; DOMÉNECH-CARBÓ, 2020). Desta maneira os picos que são registrados em solução e em estado sólido são picos referentes a processos que acontecem em solução, já os picos que são registrados só em estado sólido e não em solução, são picos que se processam por reações que são genuinamente em estado sólido.

Na Figura 46 está representado o processo de redução da cafeína em estado sólido (a), e em solução (b).

Figura 46. Voltamogramas catódicos em estado sólido (a) e em solução (b) da cafeína obtidos por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: $E_{\text{inicial}}: 1,7 \text{ V}$; $E_{\text{final}}: -0,8 \text{ V}$, $E_{\text{step}}: 4 \text{ mV}$, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV .



Fonte: Autor

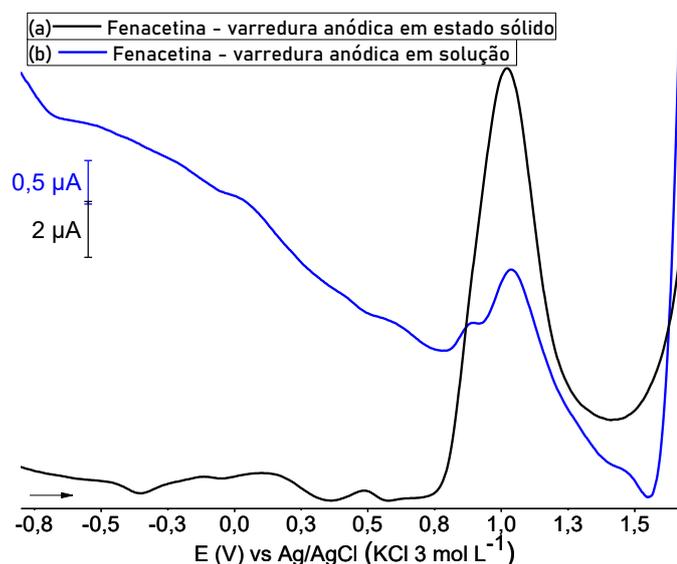
No sentido catódico em solução, os picos da cafeína foram deslocados para uma região mais negativa quando comparados com os picos em estado sólido. Acredita-se que o pico principal para a cafeína registrado em $1,50 \text{ V}$ para estado sólido, é o pico referente ao mesmo processo registrado em solução próximo a $1,30 \text{ V}$, assim como os picos em $0,5$ e $-0,5 \text{ V}$ registrados em estado sólido são os mesmos picos registrados em $0,0$ e $-0,8 \text{ V}$ em solução. Esse deslocamento do potencial de pico é esperada uma vez que na análise de sólidos não há como controlar a quantidade de amostra imobilizada no eletrodo desta maneira, podendo afetar diretamente nos potenciais (DOMÉNECH-CARBÓ; DIAS; DOMÉNECH-CARBÓ, 2020).

Os picos em $1,0$; $0,3$; $0,2$ e $0,0 \text{ V}$ só foram registrados em estado sólido sendo essas reações genuinamente em estado sólido. É importante lembrar que nas reações eletroquímicas envolvendo sólido orgânicos em contato com eletrólitos aquosos, há transferência de carga envolvendo saltos de elétrons entre centros redox imóveis que formam o sólido, acompanhados pelo transporte de prótons via formação ou quebra

de ligações químicas (DOMÉNECH-CARBÓ *et al.*, 2013). Desta maneira para compostos orgânicos é esperado uma maior quantidade de picos em estado sólido do que em solução.

Na Figura 47 e 48 estão representados os voltamogramas anódicos e catódicos da procaína em estado sólido(a) e em solução (b).

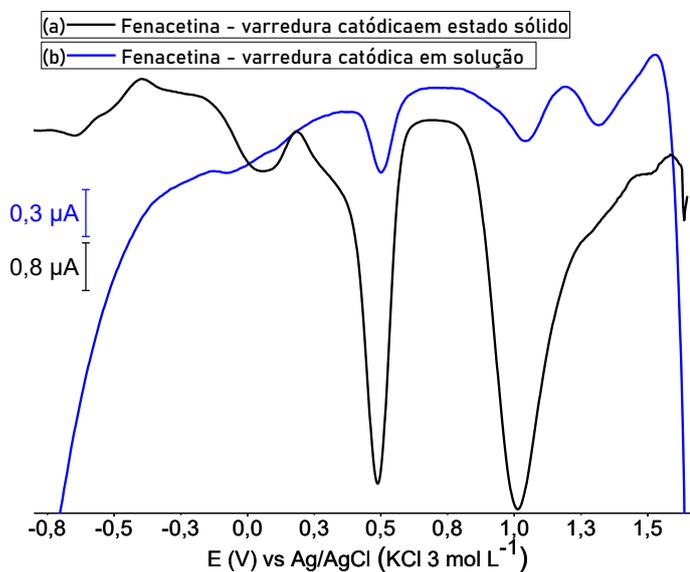
Figura 47. Voltamogramas anódicos da fenacetina, (a) em estado sólido e (b) em solução, obtidos por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial} : $-0,8 \text{ V}$; E_{final} : $1,7 \text{ V}$, E_{step} : 4 mV , frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV .



Fonte: Autor

O perfil do voltamograma anódico da fenacetina mostra que de $-0,8$ a $0,7 \text{ V}$ são registrados os mesmos picos em solução e em estado sólido, a diferença aqui é que em estado sólido os picos são maiores que em solução. Outra diferença pode ser vista entre o estado sólido e solução é o pico de $0,8$ a $1,4 \text{ V}$ onde para o processo em estado sólido há a presença de apenas um pico e em solução dois picos sobrepostos são registrados.

Figura 48. Voltamogramas catódicos da fenacetina, (a) em estado sólido e (b) em solução, obtidos por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial} : $1,7 \text{ V}$; E_{final} : $-0,8 \text{ V}$, E_{step} : 4 mV , frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV .



Fonte: Autor

Nos voltamogramas catódicos em solução (b) e em estado sólido (a), a fenacetina tem um perfil bem parecido, exceto pelo pico em 0 V que somente aparece no voltamograma obtido em estado sólido. Em estado sólido (a) na região entre $1,4$ e 1 V ocorre uma sobreposição de picos, e em solução os mesmos picos estão separados e bem definidos, um registrado em $1,4$ e outro em 1 V .

Nas Figuras 49 e 50 estão representados voltamogramas anódicos e catódicos da lidocaína em estado sólido (a) e em solução (b).

Figura 49. Voltamogramas anódicos da lidocaína, (a) em estado sólido e (b) em solução, obtidos por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: $E_{\text{inicial}}: -0,8 \text{ V}$; $E_{\text{final}}: 1,7 \text{ V}$, $E_{\text{step}}: 4 \text{ mV}$, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.

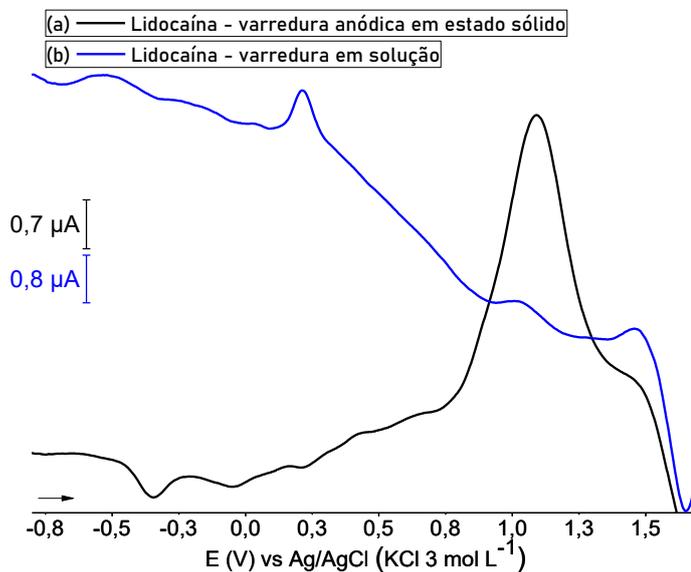
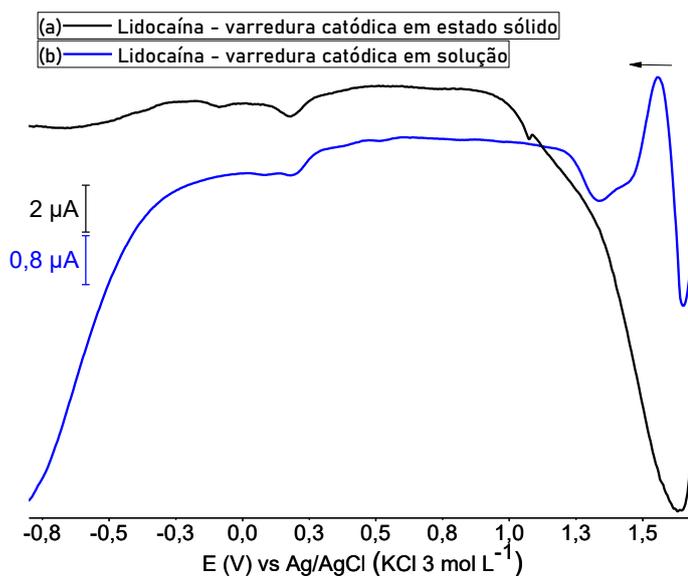


Figura 50. Voltamogramas catódicos da lidocaína, (a) em estado sólido e (b) em solução, obtidos por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: $E_{\text{inicial}}: 1,7 \text{ V}$; $E_{\text{final}}: -0,8 \text{ V}$, $E_{\text{step}}: 4 \text{ mV}$, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.

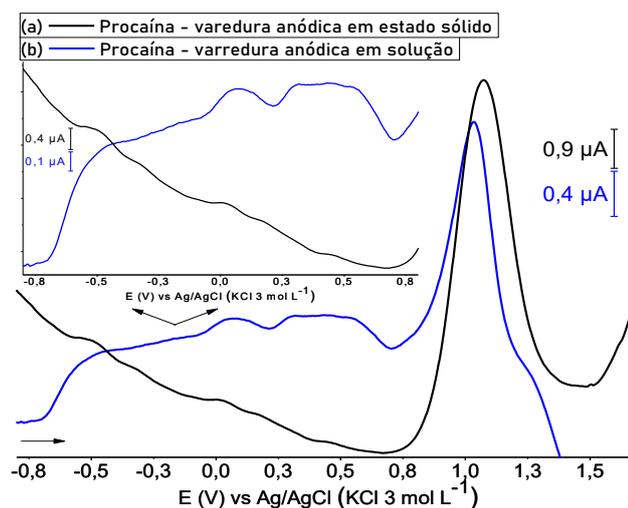


Fonte: Autor

O perfil de oxidação e redução da lidocaína em solução ficou bem parecido com o da oxidação em estado sólido, o que sugere que as reações ocorrem majoritariamente em solução, o que é esperado uma vez que a lidocaína é bastante solúvel em soluções aquosas (RAHBAR; RAMEZANI; BABAPOUR, 2015).

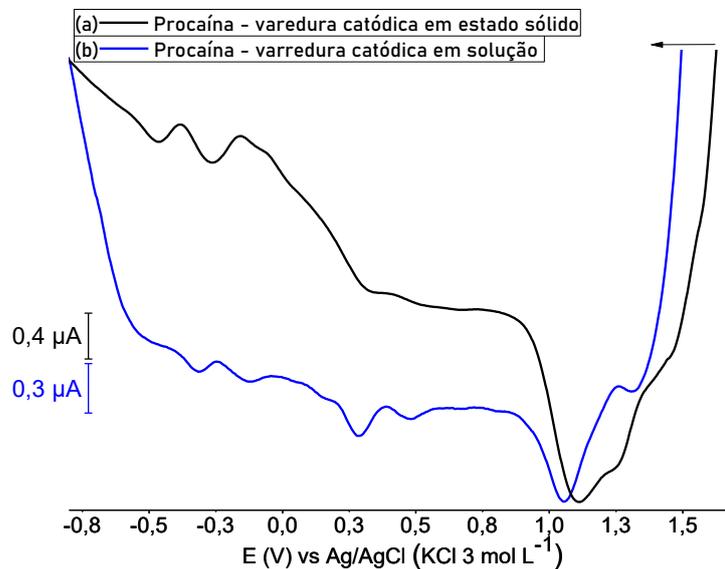
Na Figura 51 e 52 estão representados os voltamogramas anódicos e catódicos da procaína em estado sólido (a) e em solução (b).

Figura 51- Voltamogramas anódicos da procaína (a) em estado sólido e (b) em solução, obtidos por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial} : $-0,8 \text{ V}$; E_{final} : $1,7 \text{ V}$, E_{step} : 4 mV , frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV .



Fonte: Autor

Figura 52- Voltamogramas catódicos da procaína, (a) em estado sólido e (b) em solução, obtidos por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial} : $1,7 \text{ V}$; E_{final} : $-0,8 \text{ V}$, E_{step} : 4 mV , frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV .

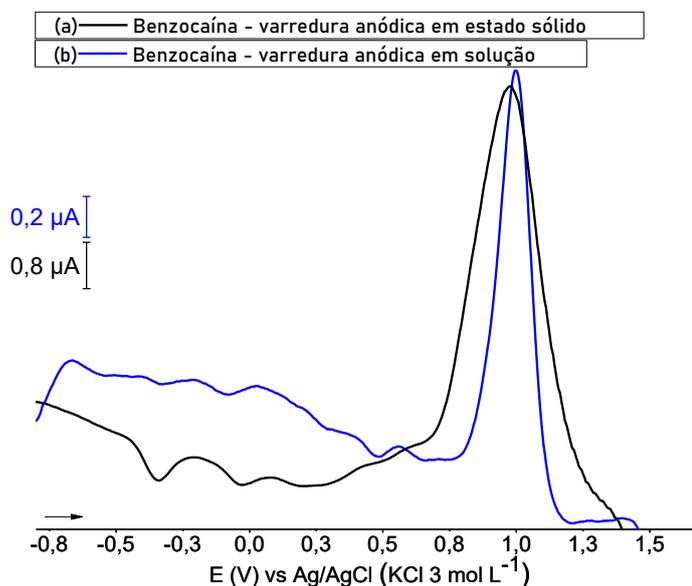


Fonte: Autor

Os perfis dos voltamogramas anódicos e catódicos da procaína em solução e em estado sólido são bem parecidos, havendo um pequeno deslocamento de picos. Desta maneira pode-se inferir que as reações se processam majoritariamente em solução, o que também é esperado uma vez que a procaína também é solúvel em solução aquosa.

Na Figura 53 estão representados os processos de oxidação da benzocaína em estado sólido (a) e em solução (b).

Figura 53- Voltamogramas anódicos da benzocaína (a) em estado sólido e (b) em solução, obtidos por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial} : $-0,8 \text{ V}$; E_{final} : $1,7 \text{ V}$, E_{step} : 4 mV , frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV .

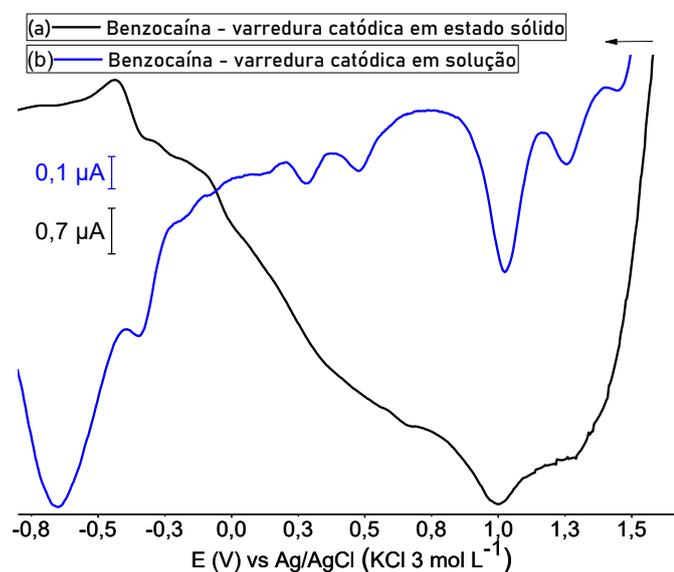


Fonte: Autor

O perfil do voltamograma da benzocaína em solução ficou também muito parecido com o em estado sólido (a). Os picos em $-0,45$; $-0,22$; $0,05$; $0,37$ e $0,56$ foram os mesmos picos registrados em (a) e (b), assim como o pico principal de benzocaína próximo a 1 V , deixando claro que os picos registrados em estado sólido são assistidos por reações em solução uma vez que se processam nos mesmos potenciais em solução e em estado sólido.

Os perfis catódicos em solução e estado sólido da benzocaína apresentam grandes semelhanças, como demonstrado na Figura 54

Figura 54- Voltamogramas catódicos da benzocaína (a) em estado sólido e (b) em solução, obtidos por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial} : $1,7 \text{ V}$; E_{final} : $-0,8 \text{ V}$, E_{step} : 4 mV , frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV .



Fonte: Autor

Entretanto, em solução é possível observar dois picos bem definidos em $0,27$ e $0,47 \text{ V}$ e esses mesmos picos em estado sólido apesar de presentes, são difíceis de identificar devido a sobreposição.

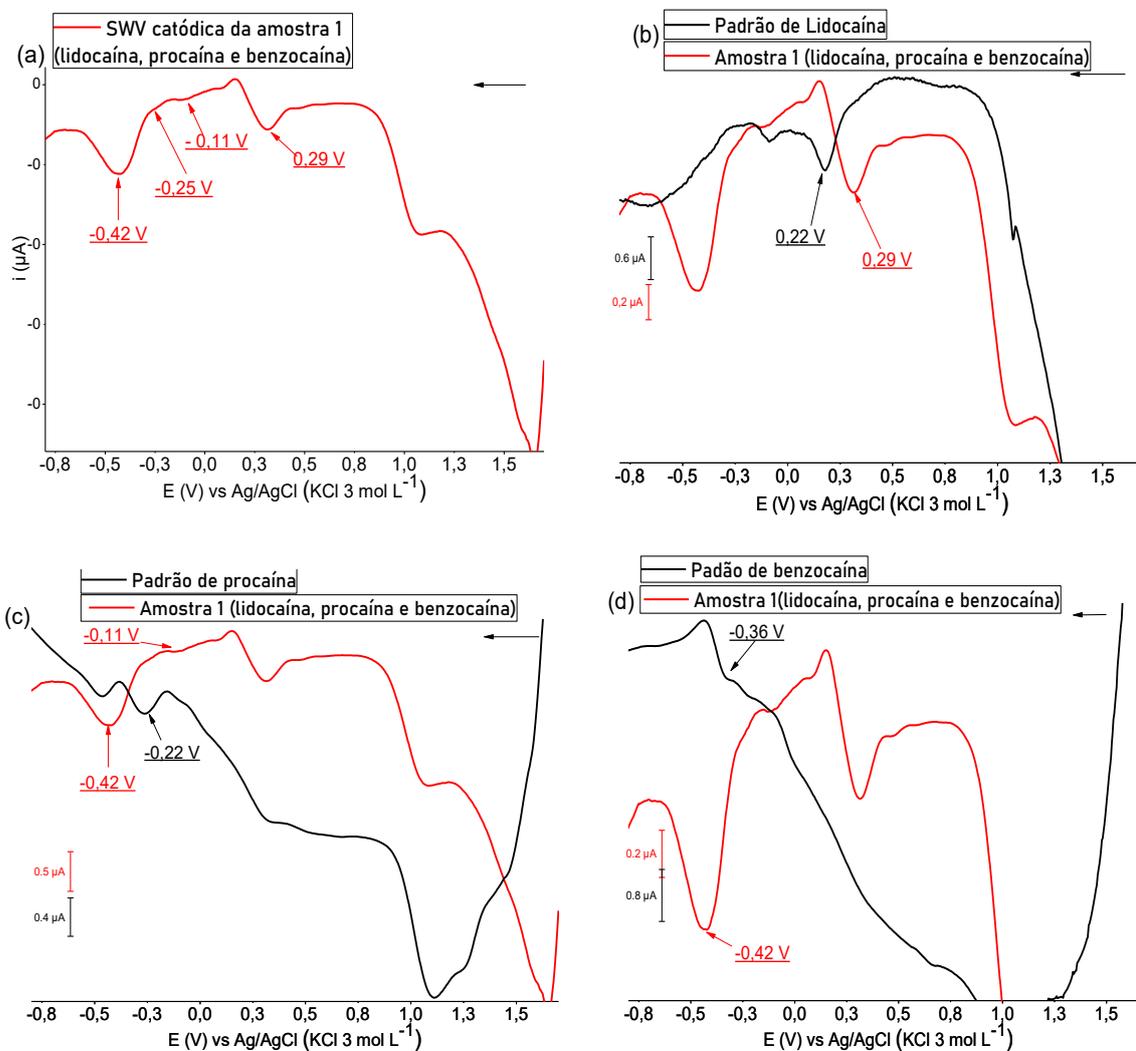
6. ANÁLISES DAS AMOSTRAS

6.1. *Screening* em estado sólido de amostras de fármacos manipulados e de medicamentos comerciais

A identificação dos fármacos presentes nas amostras de fármacos manipulados em laboratório e comerciais, foi realizada a partir da varredura catódica por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5, uma vez que este eletrólito demonstrou melhores resultados para a realização do *screening* dos compostos estudados neste trabalho. Para melhor compreensão dos dados obtidos, nas Figuras 55 a 57, além do voltamograma das amostras também foi adicionado o voltamograma dos padrões dos compostos estudados. Nas amostras 4 (Figura 58) e 5 (Figura 59), que são amostras comerciais, o voltamograma do padrão da cafeína com picos de identificação compatíveis aos picos gerados pelas amostras foram sobrepostos com o intuito de facilitar a investigação das presenças dos compostos contidos nas amostras comerciais.

Sendo assim, o voltamograma catódico da amostra 1 contendo lidocaína, procaína e benzocaína está representado na Figura 55.

Figura 55- Voltamogramas catódicos da (a) amostra 1 contendo lidocaína, procaína e benzocaína; (b) sobreposição do padrão de lidocaína e amostra 1 (a); (c) sobreposição do padrão de procaína e amostra 1 (a); (d) sobreposição do padrão de benzocaína e amostra 1(a) obtidos por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial} : 1,7 V; E_{final} : -0,8 V, E_{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.



Fonte: Autor

A confirmação da presença da lidocaína se deu pelo pico em $0,29 \text{ V}$ que sofreu deslocamento quando comparado com o padrão ($0,22 \text{ V}$), como pode ser visto na Figura 55 b.

A presença da procaína se confirmou pela presença do pico em $-0,42 \text{ V}$ (Figura 55 c). Apesar do pico em $-0,22 \text{ V}$ também poder utilizado no critério de diagnóstico,

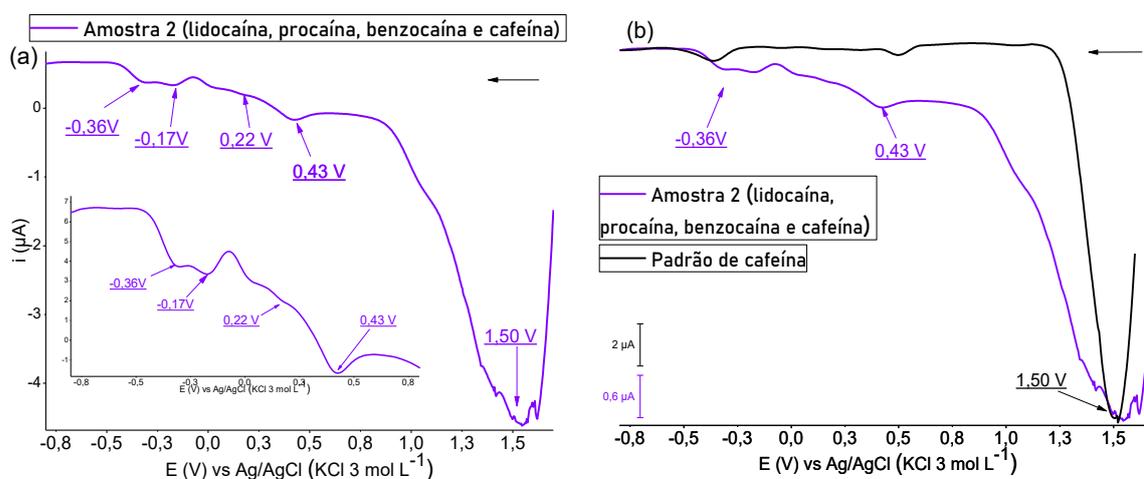
ele é de difícil identificação na amostra, possivelmente devido a interferência dos outros compostos presentes. Entretanto, acreditamos que isso não seja um problema pois a precisão da identificação do pico em $-0,42\text{ V}$ é alta.

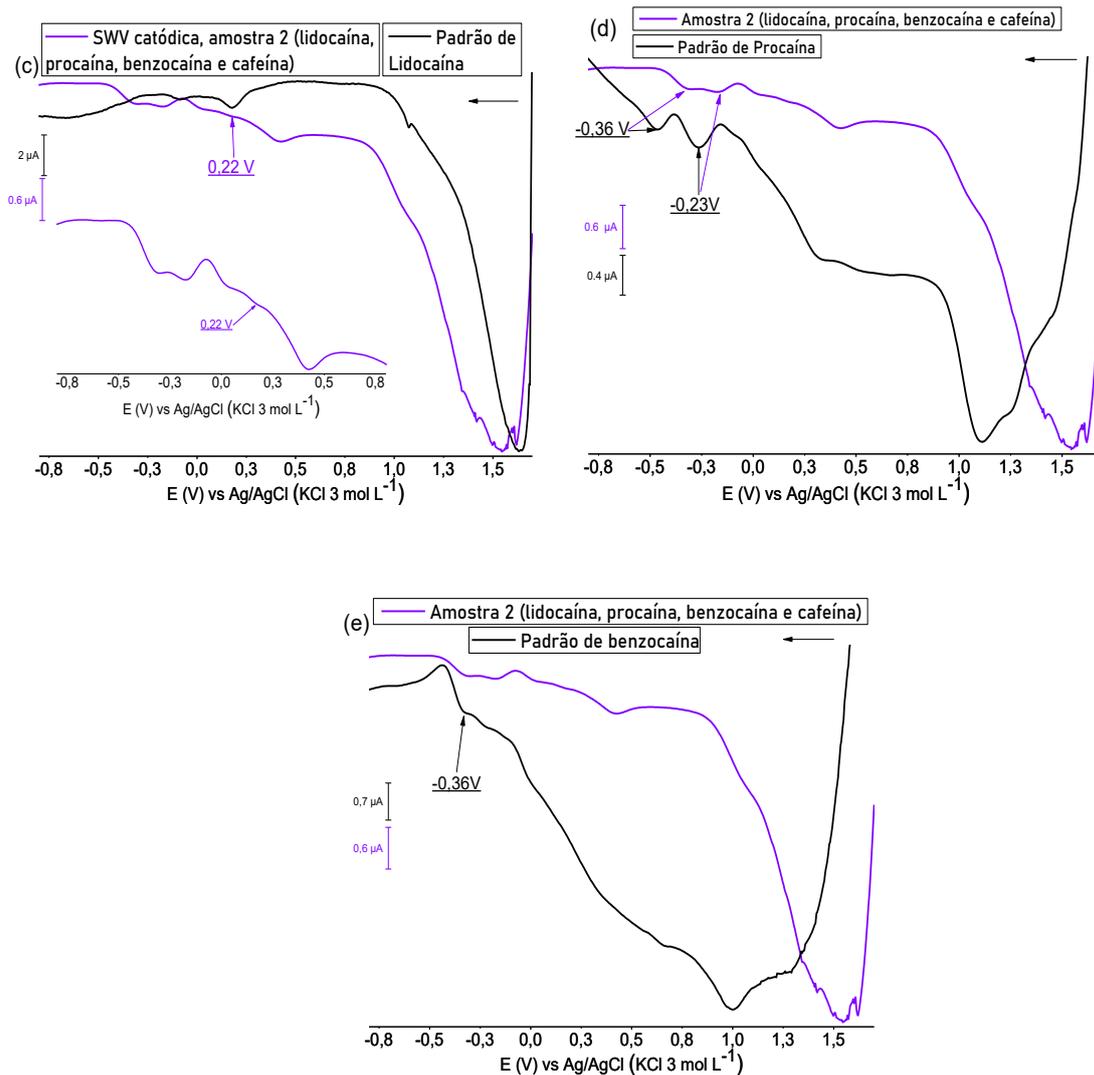
A presença da benzocaína não pode ser identificada quando misturada com lidocaína e procaína. Isso pode estar acontecendo por que o pico da procaína em $-0,42$ é muito próximo do pico da benzocaína em $-0,36\text{ V}$ como demonstrado na Figura 55 d, esse deslocamento também provavelmente aconteceu devido a mistura de mais de um composto em uma mesma amostra.

Por fim, na região mais positiva do voltamograma da amostra (Figura 55 a), há sobreposição de picos de $1,65$ a $0,9\text{ V}$. Nessa mesma região para os padrões da lidocaína em $1,63\text{ V}$, procaína em $1,10\text{ V}$ e benzocaína em $1,0\text{ V}$ são registrados picos bem definidos, desta maneira é esperado que picos sobrepostos fossem registrados na amostra.

O voltamograma catódico da amostra 2 contendo lidocaína, procaína, benzocaína e cafeína, está representado na Figura 56.

Figura 56- Voltamogramas catódicos da (a) amostra 2 contendo lidocaína, procaína, benzocaína e cafeína; (b) sobreposição do padrão de cafeína e amostra 2 (a); (c) sobreposição do padrão de lidocaína e amostra 2; (d) sobreposição do padrão de procaína e amostra 2 (a); (d) sobreposição do padrão de benzocaína e amostra 2 (a), obtidos por SWV em tampão acetato $0,1\text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: $E_{\text{inicial}}: 1,7\text{ V}$; $E_{\text{final}}: -0,8\text{ V}$, $E_{\text{step}}: 4\text{ mV}$, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV .



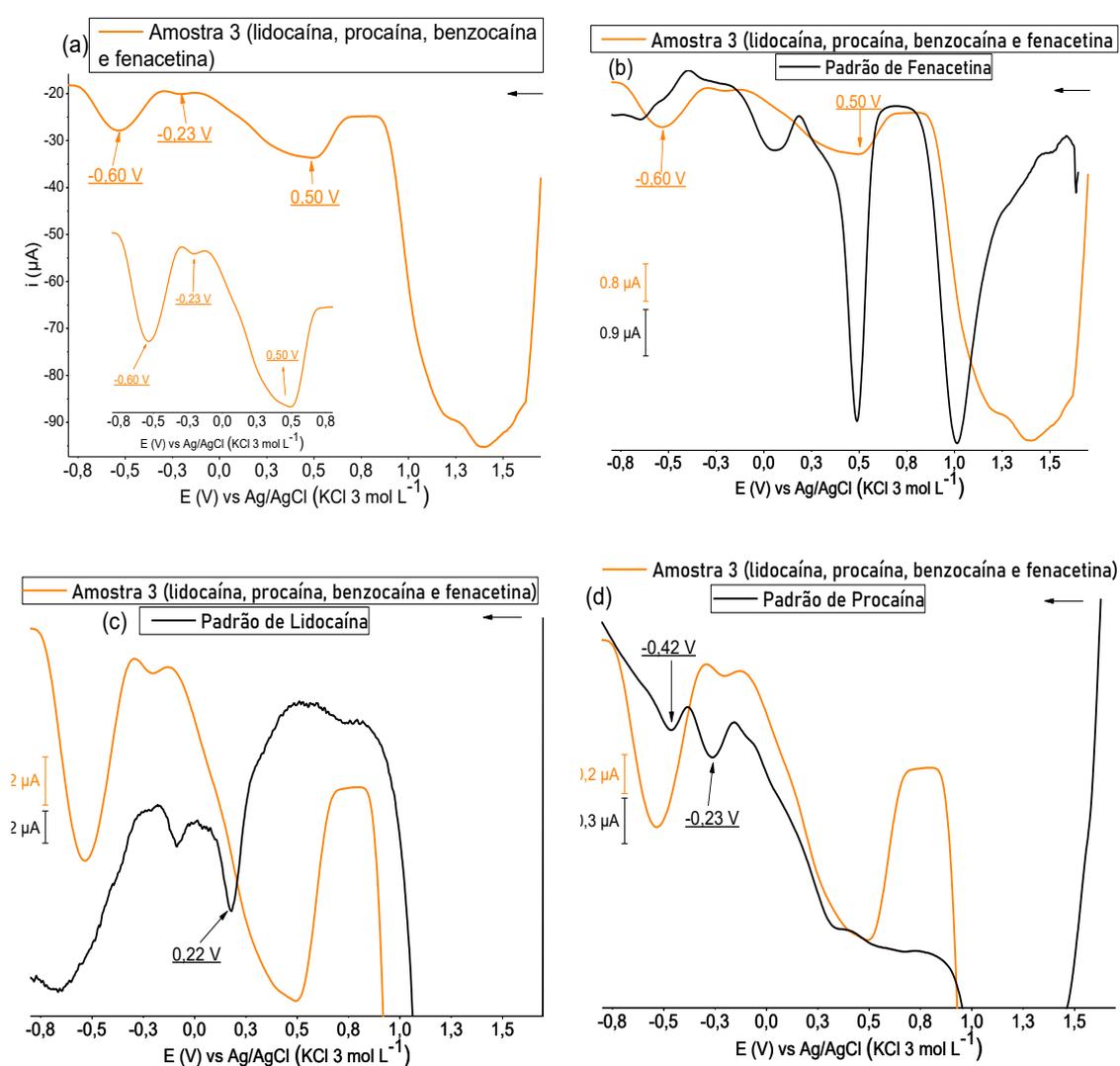


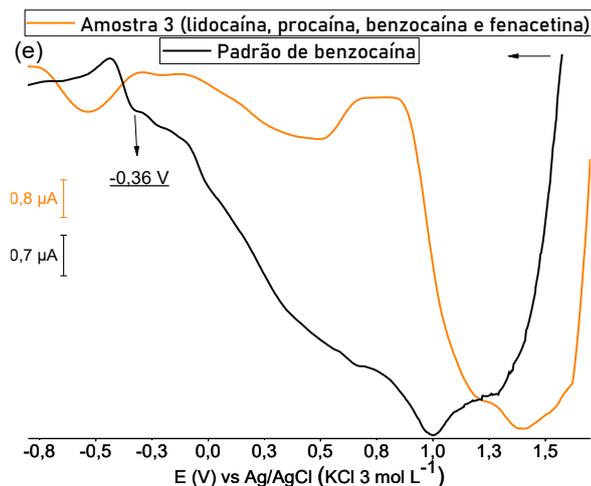
Fonte: Autor

A confirmação da presença de cafeína na amostra se deu pela presença dos picos em 0,43 e -0,36 V como pode ser visto na Figura 56 b (o pico em 0,43 V sofreu deslocamento). A confirmação da lidocaína se deu pelo pico em 0,22 V, como pode ser visto na Figura 56 c. A confirmação da procaína pela presença dos picos em -0,46 e -0,23 V (Figura 56 d) que apresentaram deslocamento quando presentes no meio contendo outros compostos (amostra). O benzocaína (pico em -0,36 V) não pode ser identificado (Figura 56 e) por que o pico que caracteriza sua presença ficou sobreposto ao pico da procaína (-0,46 V).

O voltamograma catódico da amostra 3 contendo lidocaína, procaína, benzocaína e fenacetina, está representado na Figura 57.

Figura 57- Voltamogramas catódicos da (a) amostra 3 contendo lidocaína, procaína, benzocaína e fenacetina; (b) sobreposição do padrão de fenacetina e amostra 3 (a); (c) sobreposição do padrão de lidocaína e amostra 3 (a); (d) sobreposição do padrão de procaína e amostra 3 (a), obtidos por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial} : $1,7 \text{ V}$; E_{final} : $-0,8 \text{ V}$, E_{step} : 4 mV , frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV





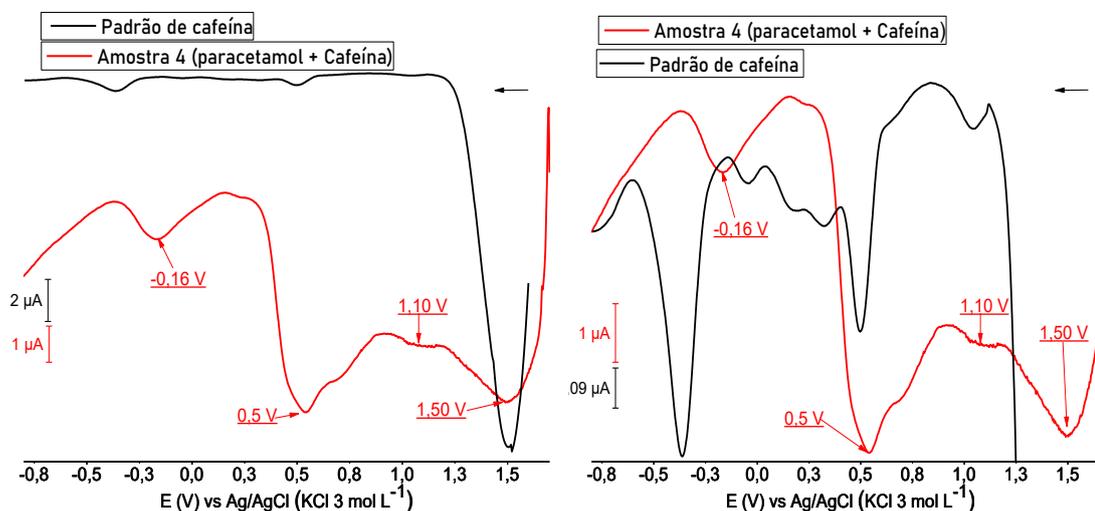
Fonte: Autor

É possível observar na amostra (Figura 57 a) um pico bem definido em 0,5 V, que é o indicativo da presença de cafeína e fenacetina. Adicionalmente é registrado pico em -0,60 V que confirma a presença da fenacetina como pode ser visto na Figura 57 b. Em aproximadamente -0,23 V é possível ver o pico de confirmação da procaína (Figura 57 d), mas o segundo pico de confirmação da procaína (em -0,42 V) não foi observado por que na amostra 3 o pico da fenacetina em -0,60 V se sobrepôs a esse pico. Os picos da lidocaína (Figura 57 c) e da benzocaína (Figura 57 e) registrados para os padrões em 0,22 e -0,36 respectivamente, ficaram mascarados na amostra pelos picos da fenacetina em -0,6 e 0,5 V, respectivamente.

É possível observar que na região mais positiva (Figura 57 a) de 0,9 a 1,65 V ocorreu uma sobreposição de picos, isso é esperado uma vez que todos os compostos possuem picos nesta região.

A Figura 58 representa o voltamograma catódico da amostra 4 (amostra comercial de comprimido contendo 1g de paracetamol e 130 mg de cafeína 130). Adicionalmente foi sobreposto ao voltamograma da amostra o voltamograma do padrão da cafeína.

Figura 58. Voltamogramas catódicos da amostra 4 (contendo paracetamol e cafeína) e padrão da cafeína (a); voltamogramas catódicos com zoom da região de interesse da amostra 4 contendo paracetamol mais cafeína e padrão da cafeína (b), obtidos por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial} : 1,7 V; E_{final} : -0,8 V, E_{step} : 4 mV, frequência: 5Hz e amplitude: 25 mV.



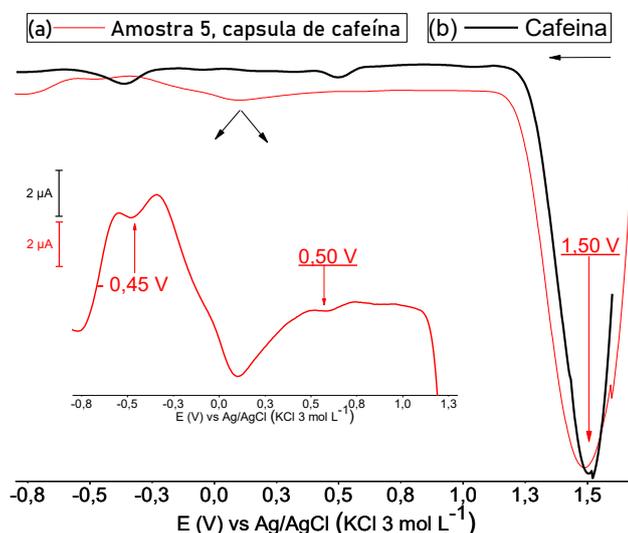
Fonte: Autor

Como pode ser observado os picos dos *screening* da cafeína ficaram bem visíveis na amostra 4. Foi observado picos bem definidos em 0,5 V (indicativo para cafeína ou fenacetina) e em 1,50 V que confirma a presença do composto na amostra. Também foi observado um pico em 1,10 V, característico da cafeína.

Há outros picos no voltamograma da amostra em -0,16; 0,2 e 0,8 V que podem ser de outros compostos presentes na amostra, como por exemplo paracetamol.

A Figura 59 representa o voltamograma catódico da amostra 5.

Figura 59. Voltamogramas catódicos da (a) amostra 5 (cápsula de cafeína) e (b) padrão da cafeína, obtidos por SWV em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5. Condições experimentais: E_{inicial} : $1,7 \text{ V}$; E_{final} : $-0,8 \text{ V}$, E_{step} : 4 mV , frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV .



Fonte: Autor

Como pode ser observado na Figura 59, foram registrados picos em 0,5 e 1,5 V que confirmam a presença de cafeína na amostra. Também foi registrado um pico em -0,45 V que pode ser o pico registrado no padrão de cafeína em -0,36 V mas que na amostra teve um deslocamento para a região mais negativa.

7. CONCLUSÃO

A partir da análise dos dados experimentais obtidos neste trabalho e sua correlação com informações da literatura é possível concluir que os quatro métodos de *screening* desenvolvidos utilizando a voltametria de micropartículas imobilizadas se mostraram eficientes para a identificação dos padrões da cafeína, fenacetina, lidocaína, procaína e benzocaína. Entretanto, o método proposto em solução acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 5 destacou-se por ser capaz de identificar todos os padrões apenas na varredura catódica, não necessitando da varredura anódica como nos demais eletrólitos estudados. Ademais, permitiu identificar o padrão de procaína e lidocaína de forma direta.

A análise das amostras manipuladas sólidas realizadas em solução tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 5, nos revelou que a benzocaína quando misturada com outros compostos (lidocaína, procaína, fenacetina e cafeína) não é identificável. A procaína pode ser identificada em todas as amostras e a lidocaína só não é identificável quando misturada com fenacetina. A cafeína e a fenacetina puderam ser identificadas facilmente nas amostras, uma vez que possuem picos bem definidos. Além disso, a cafeína foi facilmente identificável nas amostras comerciais, sugerindo que em amostras comerciais onde se faz necessário a identificação de apenas um composto, o método se mostrou extremamente eficiente. Desta maneira conclui-se que, quando estão compostos em misturas mais complexas, contendo a partir de três substâncias o método não se mostrou adequado para qualificação devido a complexidade dos voltamogramas.

Outro estudo foi a comparação do perfil voltamétrico das análises realizadas em estado sólido e em solução. A partir deste processo foi possível estabelecer quais reações ocorrem de maneira dissolutiva e quais são reações genuinamente sólido-sólido.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA. **Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos- CMED Secretaria Executiva PREÇOS MÁXIMOS DE MEDICAMENTOS POR PRINCÍPIO ATIVO AM , AP , BA , CE , MA , MG , PB , PE , PI , (medicamentos da Portaria MS DEMAIS ESTADOS Medicamentos Genéricos de SP e MG A SCME.** [s.l: s.n.]. v. 914

BALAJI, R. *et al.* The copper oxide nanoflakes modified electrodes for selective and real time electrochemical sensing of caffeine. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 118, n. May, p. 108014, 2020.

BANICERU, M.; MANDA, C. V.; POPESCU, S. M. Chromatographic analysis of local anesthetics in biological samples. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 54, n. 1, p. 1–12, 2011.

BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O. **ELECTROCHEMISTRY Principles, Methods, and Applications.** Oxford New York Tokyo OXFORD UNIVERSITY PRESS, 1993.

BREZOVÁ, V.; ŠLEBODOVÁ, A.; STAŠKO, A. Coffee as a source of antioxidants: An EPR study. **Food Chemistry**, v. 114, n. 3, p. 859–868, 2009.

BROWN, T. C. K. History of pediatric regional anesthesia. **Paediatric Anaesthesia**, v. 22, n. 1, p. 3–9, 2012.

BRUNT, T. M.; NIESINK, R. J. M. The Drug Information and Monitoring System (DIMS) in the Netherlands: Implementation , results , and international comparison Introduction : Dutch drug policy. **Drug Testing and Analysis**, n. November 2010, p. 621–634, 2011.

BUSSY, U. *et al.* In situ NMR spectroelectrochemistry for the structure elucidation of unstable intermediate metabolites. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 405, n. 17, p. 5817–5824, 2013a.

BUSSY, U. *et al.* Voltammetry coupled to mass spectrometry in the presence of isotope ¹⁸O labeled water for the prediction of oxidative transformation pathways of activated aromatic ethers: Acebutolol. **Analytica Chimica Acta**, v. 762, p. 39–46, 2013b.

CASTRO, A. S. *et al.* Voltammetric analysis of cocaine hydrochloride at carbon paste electrode chemically modified with N,N'-ethylene-bis-(salicylideneiminato) manganese(II) Schiff base complex. **Microchemical Journal**, v. 153, n. April 2019, p. 104399, 2020.

CORRÊA, D. L.; SABINO, B. D.; GUANABARA, L. P. Drogas adulteradas. In: **Psicotropicus Centro Brasileiro de Política de Drogas – Psicotropicus.** [s.l: s.n.].

DE ALMEIDA, L. S. *et al.* Electrochemical devices obtained from biochar: Advances in renewable and environmentally-friendly technologies applied to analytical chemistry. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 26, p. e00089, 2020.

DE CARVALHO, L. M. *et al.* Voltammetry of Immobilized Microparticles: Fundamentals and analytical applications. **Quimica Nova**, v. 33, n. 8, p. 1765–1772, 2010.

DOMÉNECH-CARBÓ, A. *et al.* Sequential identification of organic dyes using the voltammetry of microparticles approach. **Talanta**, v. 81, n. 1–2, p. 404–411, 2010.

DOMÉNECH-CARBÓ, A. *et al.* Screening of pharmacologic adulterant classes in herbal formulations using voltammetry of microparticles. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 74, p. 194–204, 2013.

DOMÉNECH-CARBÓ, A.; DIAS, D. In situ electrochemical monitoring of ROS influence in the dynamics of ascorbic acid and polyphenolic compounds in apple fruits. **Food Chemistry**, v. 374, p. 131818, 2021.

DOMÉNECH-CARBÓ, A.; DIAS, D.; DOMÉNECH-CARBÓ, M. T. Cation and anion electrochemically assisted solid-state transformations of malachite green. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 22, n. 3, p. 1502–1510, 2020.

DOMÉNECH-CARBÓ, A.; LABUDA, J.; SCHOLZ, F. Electroanalytical chemistry for the analysis of solids: Characterization and classification (IUPAC technical report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 85, n. 3, p. 609–631, 2013.

DOMÉNECH, A.; DOMÉNECH-CARBÓ, M. T. Chronoamperometric study of proton transfer/electron transfer in solid state electrochemistry of organic dyes. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 10, n. 12, p. 949–958, 2006.

DUNWIDDIE, T. V; MASINO, S. A. The Regulation of a Denosine. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 41, n. 1, p. 145–174, 2001.

DURIGON, A. M. M. *et al.* Food dyes screening using electrochemistry approach in solid state: the case of sunset yellow dye electrochemical behavior. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 24, n. 11–12, p. 2907–2921, 2020.

FLOREY, K. **Analytical Profiles of Drugs Substances**. [s.l: s.n.].

GAD, S. C. Phenacetin. **Encyclopedia of Toxicology: Third Edition**, v. 3, p. 862–864, 2014.

GHASEMI, A. *et al.* Complementary Therapies in Clinical Practice Principal component analysis of synthetic adulterants in herbal supplements advertised as weight loss drugs. **Complementary Therapies in Clinical Practice**, v. 31, p. 236–241, 2018.

GOMPERTZ, R. **Suplementos adulterados circulavam sem aval da Anvisa no Brasil**. Disponível em: <<http://aun.webhostusp.sti.usp.br/index.php/2019/01/28/suplementos-adulterados-circulavam-sem-aval-da-anvisa-no-brasil/>>. Acesso em: 25 jan. 2022.

GRYGAR, T. *et al.* Electrochemical analysis of solids. A review. **Collection of Czechoslovak Chemical Communications**, v. 67, n. 2, p. 163–208, 2002.

GUPTA, V. K. *et al.* Voltammetric techniques for the assay of pharmaceuticals-A review. **Analytical Biochemistry**, v. 408, n. 2, p. 179–196, 2011.

HANSEN, B. H.; DRYHURST, G. Electrochemical oxidation of theobromine and caffeine at the pyrolytic graphite electrode. v. 30, p. 407–416, 1971.

HEALTH, M.; BOX, P. O.; UTRECHT, A. S. Purity, adulteration and price of drugs bought online versus offline in the Netherlands. **Copyright © 2017 John Wiley & Sons, Ltd**, 2016.

HERMES, M.; SCHOLZ, F. **Solid-State Electrochemical Reactions of Electroactive Microparticles and Nanoparticles in a Liquid Electrolyte Environment**. [s.l.: s.n.].

IJSSELMUIDEN, C. B.; FADEN, R. R. The New England Journal of Medicine Downloaded from nejm.org on January 31, 2011. For personal use only. No other uses without permission. Copyright © 1992 Massachusetts Medical Society. All rights reserved. v. 326, 1992.

IOM. **Countering the Problem of Falsified and Substandard Drugs Committee on Understanding the Global Public Health Implications of**. [s.l.: s.n.].

IVAMA, A. M.; HOFMEISTER, M. DA G. S.; NORONHA, A. B. DE. **Prevenção E Combate À Falsificação E Fraude De Medicamentos: Uma Responsabilidade Compartilhada**. [s.l.: s.n.].

JONG, M. *et al.* Electrochemical fingerprint of street samples for fast on-site screening of cocaine in seized drug powders. **Chemical Science**, v. 7, n. 3, p. 2364–2370, 2016.

KHOO, W. Y. H.; PUMERA, M.; BONANNI, A. Graphene platforms for the detection of caffeine in real samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 804, p. 92–97, 2013.

KOLTHO, I. M.; LAITIKE, H. A. THE VOLTAMMETRIC DETERMINATION OF OXIGEN. **University of Minnesota**, 1940.

KOMORSKY-LOVRI, Š.; NIGOVI, B. Identification of 5-aminosalicylic acid, ciprofloxacin and azithromycin by abrasive stripping voltammetry. v. 36, p. 81–89, 2004.

KOMORSKY-LOVRIĆ, Š.; GALIĆ, I.; PENOVSKI, R. Voltammetric determination of cocaine microparticles. **Electroanalysis**, v. 11, n. 2, p. 120–123, 1999.

KOMORSKY-LOVRIĆ, Š.; MIRČESKI, V.; SCHOLZ, F. Voltammetry of organic microparticles. **Mikrochimica Acta**, v. 132, n. 1, p. 67–77, 1999.

KOMORSKY-LOVRIĆ, Š.; VUKAŠINOVIĆ, N.; PENOVSKI, R. Voltammetric determination of microparticles of some local anesthetics and antithusics immobilized on the graphite electrode. **Electroanalysis**, v. 15, n. 5–6, p. 544–547, 2003.

KUMAR, M. R.; ADINARAYANA, M. Oxidation of caffeine by phosphate radical anion in aqueous solution under anoxic conditions. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences: Chemical Sciences**, v. 112, n. 5, p. 551–557, 2000.

LOURENÇÃO, B. C. *et al.* Simultaneous voltammetric determination of paracetamol and caffeine in pharmaceutical formulations using a boron-doped diamond electrode. **Talanta**, v. 78, n. 3, p. 748–752, 2009.

MACIEL, J. V. *et al.* Use of carbon black based electrode as sensor for solid-state electrochemical studies and voltammetric determination of solid residues of lead. **Talanta**, v. 236, p. 122881, 2022.

MASUI, B. M.; TSUDA, Y. *Phys. Org.* 973. 1967.

MCCREDIE, M. *et al.* Phenacetin and papillary necrosis: Independent risk factors for renal pelvic cancer. **Kidney International**, v. 30, n. 1, p. 81–84, 1986.

MERCK KGAA. **Produtos químicos e bioquímicos**. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/products/chemistry-and-biochemicals>>. Acesso em: 10 set. 2021.

MIRCESKI, V. *et al.* Square-Wave Voltammetry : A Review on the Recent Progress. n. 11, p. 2411–2422, 2013.

MURRAY, S.; BOOBIS, A. R. Combined assay for phenacetin and paracetamol in plasma using capillary column gas chromatography-negative-ion mass spectrometry. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 568, n. 2, p. 341–350, 1991.

NEHLIG, A.; DAVAL, J. L.; DEBRY, G. Caffeine and the central nervous system: mechanisms of action. **Brain Research Reviews**, v. 17, n. 2, p. 139–170, 1992.

OMS. **Sistema Mundial de Vigilância e Monitorização da OMS para os produtos médicos de qualidade inferior e falsificados [WHO Global Surveillance and Monitoring System for substandard and falsified medical products]**. Licença: C ed. Ginebra: [s.n.].

OPAS/OMS. Segurança dos medicamentos: um guia para detectar e notificar reações adversas a medicamentos. Por que os profissionais de saúde precisam entrar em ação. **Anvisa**, p. 18, 2005.

ÖZCAN, A.; ŞAHİN, Y. A novel approach for the determination of paracetamol based on the reduction of N-acetyl-p-benzoquinoneimine formed on the electrochemically treated pencil graphite electrode. **Analytica Chimica Acta**, v. 685, n. 1, p. 9–14, 2011.

PALMA, F. C. *et al.* Combate à Falsificação e Roubo de Medicamentos Manual de Orientação ao Farmacêutico. **Concelho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo - CRF-SP**, 2013.

PANDOLFI, F. *et al.* Electrochemical behaviour of 9-methylcaffeinium iodide and in situ electrochemical synthesis of hymeniacidin. **Electrochimica Acta**, v. 280, p. 71–76, 2018.

PANDOLFI, F. *et al.* Cathodic Reduction of Caffeine: Synthesis of an Amino-Functionalized Imidazole from a Biobased Reagent. **Synlett**, v. 30, n. 10, p. 1215–1218, 2019.

PAULA, A. *et al.* Capillary Electrophoretic Methods for the Screening and Determination of Pharmacologic Adulterants in Herbal-based Pharmaceutical Formulations. **electrophoresis-journal**, p. 1–50, 2014.

PYSAREVSKA, S. *et al.* A state-of-the-art approach for facile and reliable determination of benzocaine in pharmaceuticals and biological samples based on the use of miniaturized boron-doped diamond electrochemical sensor. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 270, p. 9–17, 2018.

PYSAREVSKA, S.; PLOTYCYA, S.; DUBENSKA, L. Voltammetry of local anesthetics: theoretical and practical aspects. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 51, n. 4, p. 339–352, 2021.

RAHBAR, N.; RAMEZANI, Z.; BABAPOUR, A. Electro-Oxidation Mechanism and Direct Square-Wave Voltammetric Determination of Lidocaine With a Carbon-Paste Electrode. **Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products**, v. 10, n. 1, p. 1–7, 2015.

RAHBAR, N.; RAMEZANI, Z.; GHANAVATI, J. CuO-nanoparticles modified carbon paste electrode for square wave voltammetric determination of lidocaine: Comparing classical and Box-Behnken optimization methodologies. **Chinese Chemical Letters**, v. 27, n. 6, p. 837–842, 2016.

ROSSO, A.; MOSSEY, J.; LIPPA, C. F. Caffeine: Neuroprotective functions in cognition and Alzheimer's disease. **American Journal of Alzheimer's Disease and other Dementias**, v. 23, n. 5, p. 417–422, 2008.

RUNGE, F. *Phytologie*. 1820.

SALLES, M. O.; ARAUJO, W. R.; PAIXÃO, T. R. L. C. Development of a molecularly imprinted modified electrode to evaluate phenacetin based on the preconcentration of acetaminophen. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, n. 1, p. 54–61, 2016.

SCHOLZ, F. **Electroanalytical Methods Guide to Experiments and Applications 2nd, revised and extended edition**. [s.l: s.n.].

SCHOLZ, F.; LANGE, B. Abrasive stripping voltammetry - an electrochemical solid state spectroscopy of wide applicability *. v. 11, p. 359–367, 1992.

SCHOLZ, F.; SCHRÖDER, U.; GULABOSKI, R. **Electrochemistry of immobilized particles and droplets**. [s.l: s.n.].

SILVA, T. G.; SALLES, M. O.; PAIXÃO, T. R. L. C. Investigação do uso de eletrodo de carbono vítreo modificado com hexacianoferrato de rutênio para detecção de procaína. **Química Nova**, v. 38, n. 1, p. 85–90, 2015.

SILVEIRA, G. D. *et al.* Electrochemical analysis of organic compounds in solid-state: applications of voltammetry of immobilized microparticles in bioanalysis and cultural heritage science. **Journal of Solid State Electrochemistry**, n. i, 2020.

SILVERMAN, K.; GRIFFITHS, R. R. Caffeine. 2015.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. Princípios de análise instrumental. **5a. ed., Bookman: Porto Alegre, 2002.**, 2002.

TASSINARY, J. A. *et al.* Avaliação dos efeitos do ultrassom terapêutico sobre a cafeína e verificação da liberação em sistema de difusão vertical. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p. 1539–1543, 2011.

TELO, J. P.; VIEIRA, A. J. S. C. Mechanism of free radical oxidation of caffeine in aqueous solution. **Journal of the Chemical Society. Perkin Transactions 2**, n. 9, p. 1755–1757, 1997.

VASANTHI, S.; DEVENDIRAN, M.; NARAYANAN, S. S. A mercury free electrode for anodic stripping voltammetric determination of Pb (II) ions using poly zincon film modified electrode. **Applied Surface Science**, v. 422, n. li, p. 138–146, 2017.

VIGNOLI, J. A.; BASSOLI, D. G.; BENASSI, M. T. Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. **Food Chemistry**, v. 124, n. 3, p. 863–868, 2011.

WANG, C. Y. *et al.* Differential pulse adsorption voltammetry for determination of procaine hydrochloride at a pumice modified carbon paste electrode in pharmaceutical preparations and urine. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 30, n. 1, p. 131–139, 2002.

WU, K. *et al.* Electrochemistry and voltammetry of procaine using a carbon nanotube film coated electrode. **Bioelectrochemistry**, v. 68, n. 2, p. 144–149, 2006.

YANG, G.; ZHAO, F. A novel electrochemical sensor for the determination of lidocaine based on surface-imprinting on porous three-dimensional film. **Journal of Materials Chemistry C**, v. 2, n. 47, p. 10201–10208, 2014.

YIN, H. *et al.* Electrochemical behavior of phenacetin on CdSe microspheres modified glassy carbon electrode and its simultaneous determination with paracetamol and 4-aminophenol. **Analytical Methods**, v. 4, n. 5, p. 1445–1451, 2012.

YIN, H.; CHEN, L.; AI, S. Analytical Methods Electrochemical behavior of phenacetin on CdSe microspheres modified glassy carbon electrode and its simultaneous determination with paracetamol and. n. May, 2012.

ZHANG, J. *et al.* Electrochemical reaction mechanism of phenacetin at a carboxylated multiwall carbon nanotube modified electrode and its analytical applications. **Chemical Research in Chinese Universities**, v. 30, n. 6, p. 905–909, 2014.

ZHANG, S. *et al.* Electrochemical Arylation of Aldehydes, Ketones, and Alcohols: from Cathodic Reduction to Convergent Paired Electrolysis. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 60, n. 13, p. 7275–7282, 2021.