



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

MAX FABRÍCIO FALONE VARELO

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO VOLTAMÉTRICO PARA A
DETERMINAÇÃO DE BISACODIL USANDO ELETRODO DE
DIAMANTE DOPADO COM BORO**

MAX FABRÍCIO FALONE VARELO

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO VOLTAMÉTRICO PARA A
DETERMINAÇÃO DE BISACODIL USANDO ELETRODO DE
DIAMANTE DOPADO COM BORO**

Dissertação apresentada ao Departamento de Química da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Elen Julciléia Romão Sartori Braz

Londrina
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Varelo, Max Fabrício Falone.

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO VOLTAMÉTRICO PARA A DETERMINAÇÃO DE BISACODIL USANDO ELETRODO DE DIAMANTE DOPADO COM BORÓ / Max Fabrício Falone Varelo. - Londrina, 2018.
68 f. : il.

Orientador: Elen Julciléia Romão Sartori .

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, , 2018.

Inclui bibliografia.

1. Desenvolvimento de método eletroanalítico - Tese. 2. Determinação eletroanalítica de bisacodil - Tese. I. Sartori, Elen Julciléia Romão . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. . III. Título.

MAX FABRÍCIO FALONE VARELO

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO VOLTAMÉTRICO PARA A
DETERMINAÇÃO DE BISACODIL USANDO ELETRODO DE
DIAMANTE DOPADO COM BORO**

Dissertação apresentada ao Departamento de
Química da Universidade Estadual de Londrina,
como requisito parcial à obtenção do título de
Mestre em Química.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Elen J. R. Sartori Braz
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Lúcio César de Almeida
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Felipe de Almeida La Porta
Universidade Tecnológica Federal do Paraná -
URFPR

Londrina, 23 de Novembro de 2018.

Ao meu irmão, meu combustível para lutar por tudo em que acredito!

À minha mãe, minha fonte inesgotável de amor, que me fortaleceu para transpor aquilo que eu achava intransponível.

AGRADECIMENTOS

Quero começar primeiramente externando a minha gratidão ao meu Deus que, esteve comigo em todos os momentos me revestindo de força para que eu chegasse até aqui. Por Ele ter confiado em mim quando até mesmo eu duvidei. Mesmo sem merecer, sua graça me alcançou e me esvaziou de vocabulário que fizesse jus ao meu sentimento de gratidão.

À Prof^a. Dr^a. Elen Romão Sartori, pelo acolhimento, atenção e pelas contribuições que foram muito pontuais e imprescindíveis para todo o desenvolvimento do meu trabalho. Professora, você tem a minha admiração por ser uma mulher competente, profissional e uma mãe excelente! Muito Obrigado por tudo, Deus te abençoe!

À pessoa que eu mais amo na vida, Simone Falone (minha mãe), que enfrentou todo tipo de adversidades para que hoje eu concluísse mais essa etapa da minha vida! Obrigado por tudo que fez por mim, mamãe! Meu desejo é honrar todos seus esforços e ver seu sorriso de orgulho!

Ao meu irmão, Kaio Falone, por ser esse presente na minha vida, que dá sentido às minhas lutas e anseios! O ser humano lindo que você é me faz um pessoa muito orgulhosa! Obrigado, Irmão! Eu te amo muito!

À toda a minha família, especialmente minhas avós, Maria e Francisca, e a Tia Luiza, por serem minha base espiritual, minhas intercessoras. Muito Obrigado!

Aos integrantes do grupo de pesquisa, Jaqueline Tobias, Gabriel Junquetti, Ana Eisele, Camila Valezi (meu amor), Jéssica Scremin, Louise Nascimento, Adriana Gomes, Bruna Coldibeli, Kayque Nagao, Natália Sayuri, pela amizade, companheirismo, por toda ajuda e colaboração que foram essenciais para a execução deste trabalho. Especialmente ao Carlos Salamanca, que me ajudou do início até a conclusão com muita paciência e empatia, fazendo considerações muito pertinentes para que eu atingisse o objetivo com êxito. Sentirei muita saudades de vocês!

À Prof^a. Dr^a. Ieda Scarmínio, pelo uso de seu laboratório e ao Prof. Dr. Dimas Zaia,

pela disponibilização do espectrofotômetro para a realização do teste comparativo e aos todos seus orientandos pela amizade, respeito e por todos os momentos de alegria.

Ao meu grupo de estudo das disciplinas Avançadas, onde brotou um companheirismo e uma amizade incrível. Aline Moretti, Bruna Maria, João Coelho, Juliana Costa, Gabriel Melfa e Tamires Scupinari, vocês foram a parceria mais determinada para horas incansáveis de estudo. Sinto muito orgulho de vocês e de toda nossa trajetória na UEL! Gratidão!

Aos meus amigos, por serem a minha injeção diária de amor, companheirismo, fraternidade e empatia! São vocês certamente os reponsáveis por eu me sentir a pessoa mais feliz do mundo! Nada do que eu escrever aqui seria capaz de expressar exatamente o quão grato por tê-los ao meu lado! Não seria correto nomear aqui, mas gostaria que todos vocês se sentissem muito amados por mim!

E por fim, a todos aqueles que torceram, oraram comigo e me ajudaram direta e indiretamente para a conclusão de mais essa etapa,

Meu amor infinito e minha gratidão eterna!

I was served lemons, but I made lemonade.

(Beyoncé)

VARELO, Max Fabrício Falone. **Desenvolvimento de método voltamétrico para a determinação de bisacodil usando eletrodo de diamante dopado com boro.** 2018. 68 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

RESUMO

Neste trabalho, foi desenvolvido um procedimento voltamétrico para a determinação de bisacodil em formulações farmacêuticas empregando o eletrodo de diamante dopado com boro. O perfil voltamétrico indicou um pico de oxidação irreversível, reprodutível e bem definido em 1,55 V (vs Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹)), em solução tampão Britton-Robinson (pH 5,0). O tipo de pré-tratamento do eletrodo, pH e eletrólito suporte foram avaliados no desenvolvimento do método. O estudo de velocidade realizado em voltametria cíclica sugere que o processo é controlado por difusão de espécies na superfície do eletrodo. A partir das condições instrumentais estabelecidas na voltametria de pulso diferencial, o eletrodo apresentou uma resposta linear de corrente versus concentração no intervalo de 1,00 – 44,0 µmol L⁻¹, com limite de detecção de 0,353 µmol L⁻¹. O método proposto foi aplicado na determinação de bisacodil em amostras farmacêuticas comerciais. Os resultados obtidos foram comparados estatisticamente com um método de referência espectrofotométrico, a um nível de 95% de confiança. O procedimento desenvolvido se apresenta como alternativa simples, rápida, ambientalmente favorável, podendo ser amplamente aplicado em diversas análises de rotina.

Palavras-chave: Bisacodil. Eletrodo de diamante dopado com boro. Pré-tratamento catódico. Voltametria de pulso diferencial.

VARELO, Max Fabrício Falone. **Development of voltammetric method for bisacodyl determination using boron-doped diamond electrode**. 2018. 68 p. Dissertation (Master in Chemistry) – State University of Londrina, Londrina, 2018.

ABSTRACT

In this work, a voltammetric procedure was developed for the determination of bisacodyl in pharmaceutical formulations employing a boron-doped diamond electrode. The voltammetric profile of bisacodyl indicated a well-defined peak at 1.55 V (vs Ag/AgCl (KCl 3.0 mol L⁻¹) in Britton-Robinson buffer solution (pH 5.0). The type of pre-treatment, pH and supporting electrolyte were evaluated. The scan rate study performed in cyclic voltammetry, suggested that the process is controlled by diffusion. Under optimized instrumental conditions of differential pulse voltammetry, the electrode presented linear response of current versus concentration in the range of 1.00 – 44.00 µmol L⁻¹, with a detection limit of 0.353 µmol L⁻¹. The proposed method was applied in the determination of bisacodyl in commercial pharmaceutical samples. The results obtained were compared with those obtained by a spectrophotometric method which indicates no difference between these methods at a confidence level of 95%. The developed method is simple, fast, environmentally friendly, and suitable for routine analysis.

Keywords: Bisacodyl. Boron-doped diamond electrode. Cathodic pretreatment. Differential pulse voltammetry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1:** Fórmula Estrutural do BIS 18
- Figura 2:** Esquema de síntese de filme de diamante pelo método de deposição química a partir da fase vapor. 29
- Figura 3:** Voltamogramas cíclicos (50 mV s^{-1}) obtidos em solução tampão BR (pH 5,0), para $99 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BIS usando o EDDB pré-tratado catodicamente (—) em solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ por cronopotenciometria aplicando densidade de corrente de $+0,25 \text{ A cm}^2$ (60 s) e um EDDB pré-tratado anodicamente (—) em solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ por cronopotenciometria aplicando densidade de corrente de $-0,25 \text{ A cm}^2$ (240 s). 38
- Figura 4:** Voltamogramas de onda quadrada de $99 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BIS usando um EDDB-PTC em solução tampão BR em pH 4,0 (—), 5,0, (—), 6,0 (—). Parâmetros da VOQ: $f = 30 \text{ Hz}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 39
- Figura 5:** Relação entre o potencial de oxidação para $99 \mu\text{mol L}^{-1}$ BIS em diferentes valores de pH. 40
- Figura 6:** Voltamogramas de onda quadrada de $99 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BIS usando o EDDB-PTC em diferentes soluções tampão em pH 5,0: (—) BR, (—) acetato, (—) fosfato, (—) Mc’Ilvaine, (—) citrato, (—) lactato. Parâmetros da VOQ: $f = 30 \text{ Hz}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 41
- Figura 7:** Voltamogramas cíclicos obtidos em solução tampão BR (pH 5,0) de $99 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BIS, usando o EDDB-PTC em diferentes velocidades de varredura ($a - l$: $5 - 500 \text{ mV s}^{-1}$). 42
- Figura 8:** Relação linear entre corrente de pico e raiz quadrada da velocidade de varredura para voltamogramas cíclicos obtidos em solução tampão BR (pH 5,0) de $99 \mu\text{mol L}^{-1}$ usando EDDB-PTC em diferentes velocidades de varredura ($a - k$: $5 - 400 \text{ mV s}^{-1}$). 42
- Figura 9:** Proposta de mecanismo para a reação de oxidação do BIS na superfície do EDDB-PTC. 43
- Figura 10:** Cronoamperogramas obtidos da utilização do EDDB-PTC em solução tampão BR (pH 5,0) com potencial fixado em $1,60 \text{ V}$ durante 30 s na faixa de concentração de $1,99 - 29,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ 44
- Figura 11:** Voltamogramas de pulso diferencial em solução tampão BR (pH 5,0) obtidos a partir da utilização de EDDB-PTC para as seguintes concentrações de BIS:

(1) 0, (2) 1,00 (3) 3,98, (4) 6,95, (5) 11,0, (6) 15,7, (7) 21,5, (8) 28,2 (9) 35,7, (10) 44,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Parâmetros da VPD: $a = 80 \text{ mV}$, $t_m = 5 \text{ ms}$ e $v = 12,5 \text{ mV s}^{-1}$47

Figura 12: Curva analítica obtida a partir dos voltamogramas de pulso diferencial apresentados na Figura 11, para o intervalo de concentração de BIS de 1,00 – 44,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$48

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Parâmetros instrumentais da VOQ e VPD avaliados para a determinação de BIS em solução tampão BR (pH 5,0)45
- Tabela 2:** Parâmetros analíticos obtidos para a determinação de BIS por VOQ e VPD em solução tampão BR (pH 5,0) usando um EDDB-PTC.....46
- Tabela 3:** Características dos procedimentos analíticos para a determinação de BIS previamente reportados na literatura em comparação ao procedimento proposto....49
- Tabela 4:** Efeito de interferentes na recuperação do sinal analítico de $9,90 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BIS.53
- Tabela 5:** Resultados obtidos para determinação de BIS em formulações farmacêuticas utilizando o método proposto em comparação com o espectrofotométrico.....53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|--------------|---|
| α | Coeficiente de transferência eletrônica |
| ΔE_s | Incremento de potencial |
| AdSVOQ | Voltametria adsortiva de redissolução por onda quadrada |
| BR | Britton-Robinson |
| CCD | Cromatografia de camada delgada |
| CG | Cromatografia gasosa |
| CLAE | Cromatografia líquida de alta eficiência |
| CLAE-EM | Cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria de massas |
| CLAE-UV | Cromatografia líquida de alta eficiência com detecção espectrofotométrica |
| CVD | Deposição química a partir da fase vapor (do inglês " <i>chemical vapor deposition</i> ") |
| D_0 | Coeficiente difusional |
| EDDB | Eletrodo de diamante dopado com boro |
| EDDB-PTA | Eletrodo de diamante dopado com boro pré-tratado anodicamente |
| EDDB-PTC | Eletrodo de diamante dopado com boro pré-tratado catodicamente |
| E_{pa} | Potencial de oxidação |
| $E_{p/2}$ | Potencial de meio pico |
| f | Frequência de onda quadrada |

| | |
|-----------|---|
| HPHT | Alta-pressão/alta-temperatura (do inglês, “high-pressure/high-temperature”) |
| LD | Limite de detecção |
| LQ | Limite de quantificação |
| n | número de elétrons |
| N | número de medidas |
| tm | Tempo de modulação |
| v | Velocidade de varredura |
| VC | Voltametria cíclica |
| VOQ | Voltametria de onda quadrada |
| VPD | Voltametria de pulso diferencial |
| $v^{1/2}$ | Raiz quadrada da velocidade de varredura |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 17 |
| 1.1 BISACODIL..... | 18 |
| 1.2 MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE BIS | 19 |
| 1.2.1 MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS | 19 |
| 1.2.2 MÉTODOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS..... | 21 |
| 1.3 TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS | 22 |
| 1.3.1 DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA DO BIS | 24 |
| 1.3.2 VOLTAMETRIA..... | 24 |
| 1.4 ELETRODOS A BASE DE CARBONO NA ELETROANÁLISE | 26 |
| 1.5 FILMES DE DIAMANTE DOPADO COM BORO | 27 |
| 2 OBJETIVOS | 34 |
| 2.1 OBJETIVOS GERAIS..... | 34 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 34 |
| 3 MATERIAIS E MÉTODOS..... | 35 |
| 3.1 REAGENTES E SOLUÇÕES..... | 35 |
| 3.2 EQUIPAMENTOS..... | 35 |
| 3.3 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS..... | 36 |
| 3.4 PREPARO DE AMOSTRAS..... | 37 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES | 38 |
| 4.1 COMPORTAMENTO VOLTAMÉTRICO DO BIS SOBRE O EDDB..... | 38 |
| 4.2 EFEITO DO pH E ELETRÓLITO SUPORTE | 39 |
| 4.3 EFEITO DA VELOCIDADE DE VARREDURA | 41 |

| | |
|---|-----------|
| 4.4 DETERMINAÇÃO DO BIS USANDO O EDDB-PTC..... | 45 |
| 4.5 APLICAÇÃO DO MÉTODO DESENVOLVIDO NA DETERMINAÇÃO DO BIS EM AMOSTRA FARMACÊUTICA..... | 52 |
| 5 CONCLUSÕES | 55 |
| REFERÊNCIAS..... | 56 |

1 INTRODUÇÃO

Novas pesquisas apontam que 16% dos adultos da população mundial sofrem com a constipação intestinal que, embora não tenha uma definição bem estabelecida na literatura (GALVÃO-ALVES, 2013), já é considerada como o distúrbio gastrointestinal relatado com maior frequência em consultórios médicos por afetar diversos aspectos da saúde e diretamente na qualidade de vida das pessoas (COLLETE et. al., 2010; FOROOTAN et. al., 2018).

Dentre os seus fatores de desenvolvimento destaca-se primeiramente o modelo do estilo de vida atual de países com alto consumo de produtos industrializados, sucetibilizando uma dieta ineficaz marcada pela ausência de ingestão de fibras, seguido de disfunções endócrinas e metabólicas, inatividade física, distúrbios psiquiátricos, uso de contínuo de medicamentos, o baixo nível socioeconômico e a baixa escolaridade (DEL CIAMPO et al., 2006; WALD, 2006; BHARUCHA, 2007; SETHI et al., 2014).

Os principais sintomas estão associados ao ressecamento das fezes, sensação de esvaziamento incompleto, evacuações escassas com necessidade de sobreesforço e demanda de tempo, insucesso na defecação e bloqueio anoarretal (GARCIA et. al., 2016; WALD 2016). No entanto, medidas simples podem ser adotadas para a sua prevenção como educação alimentar, rotina de exercícios físicos associados a hábitos que proporcionam melhor qualidade de vida são quesitos importantes para evitar e tratar a constipação intestinal, mas, às vezes é necessário recorrer ao uso de laxantes, cuja aplicação terapêutica já é conhecida há pelo menos 2.000 anos (CLAYTON; STOCK, 2002; BHARUCHA, 2007; GARCIA et. al., 2016).

Os laxantes podem ser naturais ou sintéticos, e atuam como estimulantes artificiais que agem no intestino grosso afim de esvaziá-lo (ROERIG, J. L.; STEFFEN, K. J.; MITCHELL, J. E.; ZUNKER, 1988; MANSO, 2013). Brunton e colaboradores (2012) explicam que para a classificação, são geralmente considerados os mecanismos de ação, dessa forma podem ser: fármacos opticamente ativos, agentes osmóticos, agentes procinéticos e difenilmetanos.

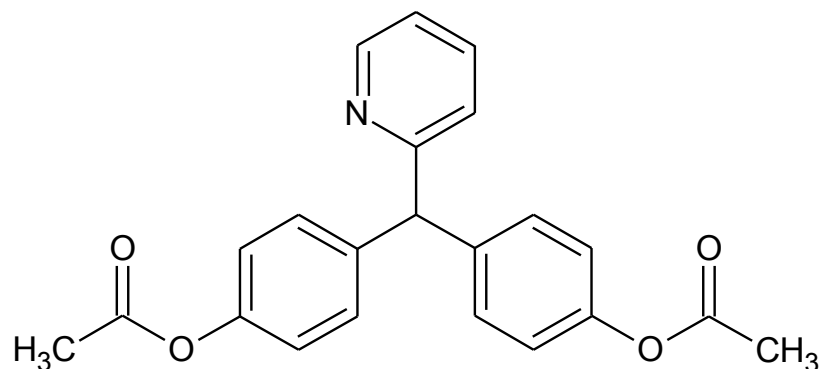
A classe dos difenilmentanos é composta pelos laxantes antraquinona, azeite de rícino, bisacodil (BIS) e a fenolftaleína que teve sua distribuição vetada nos Estados Unidos no final dos anos 90 e em seguida, pela ANVISA em 2002, devido

as suas características carcinogênicas (BRASIL, 2002; BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012). Com esse veto, o BIS passou a ser o principal fármaco da atualidade empregado no tratamento da constipação intestinal, prisão de ventre, casos de pré e pós operatório, procedimentos radiológicos, endoscópicos e em casos onde o esvaziamento do cólon intestinal seja conveniente (DEL CIAMPO et al., 2006; GARCIA et al., 2016). Dessa forma, torna-se imprescindível o desenvolvimento de um método analítico que seja simples, de relativo baixo custo e exato para um controle da qualidade de formulações farmacêuticas que contenham BIS.

1.1 BISACODIL

O BIS (Figura 1) é um estimulante laxativo que age no intestino grosso, induzindo-o a sofrer uma leve inflamação decorrente do acúmulo de água e eletrólitos que estimulam a motilidade intestinal (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012)

Figura 1: Fórmula Estrutural do BIS



Fonte: Próprio autor.

A importância de um controle de qualidade rigoroso em formulações farmacêuticas disponíveis para consumo humano que contenham BIS se dá em consideração ao seu fácil acesso e baixo custo.

O consumo deste fármaco é livre de prescrição médica originando uma grande propagação devido a automedicação e o uso abusivo com propósito de perda de peso por pacientes obesos e aos acometidos de anorexia e bulimia, potencializando os efeitos adversos e tantas outras consequências de ordem intestinal como evacuações espontâneas, agravamento do quadro de constipação inserindo o paciente a um ciclo vicioso (ANDRADE et al., 2003; MOREIRA, 2012). Além disso, a sobredosagem ocasiona catarse, deficiência de fluídos e eletrólitos, principalmente Na^+ e K^+ (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012).

1.2 MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE BIS

A farmacopeia brasileira preconiza a cromatografia em camada delgada (CCD) como método oficial empregado para a determinação do BIS (BRASIL, 2010) enquanto que a farmacopeia britânica designa a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) tanto para a determinação do BIS quanto de seus metabólitos (BRITISH PHARMACOPOEIA, 2009). No entanto, é possível encontrar uma variedade de trabalhos na literatura empregando outras técnicas analíticas como os que serão apresentados a seguir.

1.2.1 MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

Ali (1979) empregou a CLAE para determinação de BIS e seus subprodutos, os quais foram determinados após separação em uma coluna de fase reversa (C18). Para esse trabalho, uma solução de água, acetonitrila e acetado de sódio foi utilizada como fase móvel. Segundo o autor, a faixa linear de concentração para o BIS foi de 83,01 – 830,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Os valores de limite de detecção (LD) obtidos para o BIS e seu metabólito foram de 41,50 e 20,75 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente.

Logo mais, Kok e colaboradores (1981) desenvolveram um método para a análise qualitativa e quantitativa simultânea de antraquinona, desacetil-bisacodil (metabólito do bisacodil), fenolftaleína e oxifenisatina em urina humana empregando a cromatografia gasosa (CG) acoplada a espectrometria de massa (EM). Os valores de LD encontrados foram 0,048 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para antraquinona, 0,108 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para

desacetil-bisacodil, $0,09 \mu\text{mol L}^{-1}$ para fenolftaleína e de $0,16 \mu\text{mol L}^{-1}$ para oxifenisatina. Foram obtidas linearidades no intervalo de concentração de $125 - 2820 \mu\text{mol L}^{-1}$ para a fenolftaleína e de $96,06 - 2401 \mu\text{mol L}^{-1}$ para os demais compostos alvo. Neste trabalho houve a necessidade da extração em amostras de urina com éter dietílico seguido por evaporação, e assim os compostos sofreram derivatização por trimetilsililação. Os autores ressaltam que na determinação analítica de laxantes com a CG obtiveram falsos positivos e que, a aquisição de dados confiáveis só foi possível com a utilização da espectrometria de massas que, segundo eles, conferiu uma maior seletividade à técnica.

Fullinfaw e colaboradores (1988) usaram a CLAE com detecção espectrofotométrica (CLAE-UV) para avaliar o uso abusivo de laxantes estimulantes e seus derivados em amostras biológicas. A extração desses compostos na urina teve que ser realizada em várias etapas, havendo necessidade do uso de clorofórmio e isopropanol. A fase móvel empregada foi acetonitrila. As quantidades mínimas detectáveis neste trabalho foram: reína $1,02 \mu\text{mol L}^{-1}$, desacetil-bisacodil $0,144 \mu\text{mol L}^{-1}$, bisoxatina difenol $0,09 \mu\text{mol L}^{-1}$, fenolftaleína $0,06 \mu\text{mol L}^{-1}$, BIS $27,67 \mu\text{mol L}^{-1}$, bisoxatina $0,269 \mu\text{mol L}^{-1}$ e dantrona $0,374 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Posteriormente, Bradshaw e colaboradores (1995) empregaram a CLAE para determinar as dosagens de BIS e seus produtos de degradação em comprimidos, supositórios e enemas. A faixa linear de concentração obtida foi de $160 - 537,64 \mu\text{mol L}^{-1}$ para os comprimidos e enema, e $3,13 - 104,6 \mu\text{mol L}^{-1}$ para supositórios. Neste trabalho, os autores apresentam o LD apenas para o monoacetil-bisacodil, sendo $0,0062 \mu\text{mol L}^{-1}$. Para a extração do BIS nas dosagens farmacêuticas foi empregado acetonitrila como fase móvel.

Campbell e Sherma (2003) descrevem um método utilizando a CCD com detector desintométrico para determinação do BIS em comprimidos. Embora não seja mencionada a faixa de concentração estudada, os autores ressaltam que o LD obtido foi cerca de $0,276 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Muratt e colaboradores (2018) desenvolveram um método para determinar várias drogas multiclases (estimulantes, anoréxicos, ansiolíticos, antidepressivos, diuréticos e laxantes) empregando a CLAE com detecção amperométrica pulsada em um eletrodo de ouro. Entre os fármacos estudados, para o BIS a faixa linear de concentração obtida foi de $13,83 - 221,3 \mu\text{mol L}^{-1}$, com LD de $2,047 \mu\text{mol L}^{-1}$.

1.2.2 MÉTODOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS

Os métodos espectrofotométricos também são empregados na determinação de BIS como no trabalho de Abdel-Hay e colaboradores (2004) que determinaram o BIS e pirebidil pela reação de ambos analitos com o ácido *p*-clorogênico (*p*-CA) em acetonitrila. Após isso, ambos são complexados com ácido pícrico (AP), verde de bromocresol (VB), púrpura de bromocresol (PB), azul de bromofenol (AB) em clorofórmio. O método apresentou as seguintes faixas lineares de concentração: 110,6 – 830,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (BIS-*p*-CA); 16,60 – 138,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (BIS-AP); 8,30 – 110 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (BIS-VB); 5,53 – 66,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (BIS-PB); 5,53 – 83,01 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (BIS-AB). Os limites de detecção obtidos para os complexos formados com BIS foram de 99,61, 1,38, 1,38, 0,83, 0,83 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Os autores afirmam que embora o método seja sensível, as reações de derivatização empregadas na determinação de ambos analitos demandam tempo.

Metwally e colaboradores (2007) desenvolveram três métodos para determinação de BIS na presença de seus produtos de degradação monoacetil-bisacodil(I) e desacetil-bisacodil(II), em comprimidos com revestimento entérico, supositórios e matéria-prima. O primeiro trata-se de um método espectrodensitométrico, onde o fármaco é separado dos seus produtos em placas de sílica-gel utilizando clorofórmio-acetona. A partir da otimização das condições instrumentais, o BIS apresentou banda de absorção no comprimento de onda de 223 nm. O segundo método empregou a espectrofotometria de quarta derivada (D_4), que permite a determinação de BIS na presença de seus produtos de degradação, em um comprimento de onda de 223 nm usando acetonitrila como solvente. Por fim, o último método consistiu na análise quimiométrica dos dados espectrofotométricos do BIS e seus produtos de degradação, empregando técnicas como mínimos quadrados clássicos, regressão de componentes principais e mínimos quadrados parciais. A faixa de concentração estudada foi de 5,534 – 38,73 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Elvis e Deepali (2011) determinaram BIS em comprimidos e supositórios empregando método espectrofotométrico. As amostras foram preparadas utilizando metanol e ácido acético glacial 1 mol L^{-1} . Embora os autores não tenham fornecido o

valor de LD, a faixa linear de concentração obtida foi de 11,1 – 55,34 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Ressalta-se que este método foi empregado como comparativo ao método proposto.

Ahmad e Majid (2011) desenvolveram um método a partir da espectrofotometria para a determinação indireta de BIS em dosagens farmacêuticas partindo da oxidação do mesmo com ferro(III) na presença de *o*-fenantrolina em meio ácido formando o complexo ferroína. O método apresentou intervalo linear de concentração de 1,324 – 13,24 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com LD de 0,219 $\mu\text{mol L}^{-1}$. No entanto, as reações envolvidas possuem muitas etapas e a extração dos produtos é realizada empregando o solvente orgânico clorofórmio.

Mohammed e colaboradores (2017) propuseram um método espectrofotométrico utilizando reagente cromogênico 2,4-dinitrofenilhidrazina associado ao periodato de sódio em meio alcalino. Nessas condições, o BIS é oxidado formando um produto de cor vermelha, solúvel em água, apresentando absorção no comprimento de onda de 522 nm. A faixa linear de concentração obtida foi de 3,585 – 35,85 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com LD de 0,055 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Atualmente, diversas técnicas eletroanalíticas vêm sendo amplamente empregadas no desenvolvimento de métodos de determinação de vários compostos, especialmente de fármacos, tanto em suas diferentes formas de dosagens quanto sua determinação em amostras biológicas (DE SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003; SARTORI, 2009; USLU; OZKAN, 2011).

1.3 TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS

A análise de fármacos é realizada rotineiramente visando a garantia de qualidade de cada medicamento para proporcionar seguridade para os seus usuários (SARTORI, 2009). Sendo assim, a indústria farmacêutica e as farmácias de manipulação recorrem à Farmacopeia, que descreve os métodos oficiais, que na maioria das vezes são desenvolvidos a partir de técnicas analíticas tradicionais como a cromatografia e a espectroscopia. Entretanto, essas requerem o uso de solventes com alto grau de toxicidade, demandam de tempo nas análises, necessidade da aplicação de modelos matemáticos robustos para a interpretação

dos resultados e alto custo de instrumentação (LOURENÇÃO, 2009; USLU; OZKAN, 2011).

No entanto, algumas dessas desvantagens podem ser contornadas pelo emprego das técnicas eletroanalíticas, que relacionam a concentração do analito com alguma propriedade elétrica, podendo ser a corrente, potencial, condutividade, resistência ou carga (GALLI et al., 2006; SKOOG et al., 2009). Dependendo do analito a se determinar pode-se desenvolver procedimentos mais simples, econômicos e ambientalmente mais amigáveis utilizando essas técnicas.

As vantagens da sua utilização envolvem um baixo custo relativo de instrumentação, tempo rápido de resposta, seletividade, aplicação para a quantificação de espécie de interesses em diversas áreas de estudo, análise de amostras coloridas ou contendo partículas sólidas, aplicação de medidas diretamente na amostra sem etapas de pré-purificação ou separação prévia, precisão e boa faixa linear de trabalho (DE SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003; USLU; OZKAN, 2011). O sucesso do emprego da eletroanálise também está diretamente ligado às inovações tecnológicas obtidas com o desenvolvimento de componentes eletrônicos modernos que possibilitam o emprego de técnicas que envolvem a aplicação de pulsos potenciais (BRETT; BRETT, 1993; DE DE SOUZA et al., 2004).

Uma característica marcante desse conjunto de técnicas eletroanalíticas são os baixos limites de detecção, como mostrado no trabalho de Fu e colaboradores (2018a) que determinaram o flavonóide luteolina em cascas de amendoim com LD de $1,7 \text{ pmol L}^{-1}$ e posteriormente empregaram a voltametria de onda quadrada (VOQ) na determinação simultânea de ácido ascórbico, dopamina e ácido úrico obtendo valores de LD de $17,8$, $1,44$ e $0,29 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente (FU et al., 2018b). A partir das técnicas voltamétricas, Valezi e colaboradores (2014) propuseram um método para a determinação do anlodipino, um anti-hipertensivo, obtendo LD de 49 nmol L^{-1} . Em um outro trabalho, o diclorofeno, que apresenta atividade fungicida, germicida e antimicrobiana foi determinado em amostras de água por voltametria com LD de $0,014 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (SIPA et al., 2018). Os marcadores tumorais, ácido homovanílico e ácido vanilmandélico, foram determinados com a voltametria de pulso diferencial (VPD), alcançando LD de $0,6$ e $0,4 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (BALUCHOVÁ et al., 2018).

1.3.1 DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA DO BIS

A literatura reporta a descrição de alguns métodos eletroanalíticos utilizados para a determinação analítica de BIS.

Maleki e colaboradores (2006) desenvolveram um eletrodo potenciométrico seletivo ao BIS a partir do par iônico bisacodil-fosfotungstato imobilizado pela membrana polimérica de cloreto de polivinila (PVC). A otimização dos constituintes da membrana apresentou resposta nernstiana de $60,3 \pm 2,1$ mV por década em uma faixa linear de concentração de 80 – 5000 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Daneshgar (2009) desenvolveu um método para a determinação de BIS em amostras farmacêuticas e fluidos biológicos, baseado na utilização de um microeletrodo de ouro combinado com voltametria adsortiva de redissolução por onda quadrada (AdSVOQ). Neste trabalho, os autores utilizaram transformada discreta de Fourier para separar o sinal voltamétrico do sinal de fundo e assim, melhorar a sensibilidade do método. A corrente adsortiva monitorada foi diretamente proporcional a concentração do BIS, apresentando linearidade no intervalo de concentração de $8,0 \times 10^{-6}$ – 0,0145 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O LD obtido foi de $1,0 \times 10^{-6}$ $\mu\text{mol L}^{-1}$ com um tempo de acumulação de 700 ms em uma solução 0,05 mol L^{-1} de H_3PO_4 .

1.3.2 VOLTAMETRIA

Segundo Skoog et al., (2015) a voltametria fundamenta-se nos processos que acontecem na interface eletrodo/solução, sendo ocorridos em uma célula eletroquímica onde aplica-se um potencial para medir a corrente elétrica.

As técnicas voltamétricas são empregadas no desenvolvimento de métodos analíticos pela ampla gama de vantagens mencionadas no item 1.3, e principalmente por caracterizar e descrever determinados sistemas de interesse, nesse quesito destaca-se a voltametria cíclica (VC) que é um recurso eficaz para diagnosticar o comportamento voltamétrico do analito de interesse gerando dados qualitativos das reações eletroquímicas (WANG, 2000; USLU e OZKAN, 2011; ARISTOV; HABEKOST, 2015).

Na VC, o potencial aplicado varia linearmente em forma de onda triangular, partindo de um potencial inicial (E_i) até um potencial pré-determinado (E_v), e então quando este é alcançado, inverte-se o sentido da varredura até chegar no potencial final (E_f) que pode ser o E_i ou outro valor de interesse (BRETT; BRETT, 1993; DE SOUSA et al, 2003; BHATTACHAYYA et al., 2012).

A variação da velocidade de varredura é um importante quesito da VC que é investigada com o intuito de obter parâmetros cinéticos e de reversibilidade do sistema de interesse. Dessa forma, um deslocamento de potencial de oxidação para valores mais positivos ou um potencial de redução deslocado para valores menos positivos é característico de reações irreversíveis enquanto que as reversíveis apresentam um potencial constante mesmo com a variação na velocidade (GOSSER, 1993; USLU; BARD; WANG, 2000; FAULKNER, 2001; OZKAN, 2011). Além disso, o estudo da variação da velocidade é fundamental para o conhecimento do processo pelo qual as espécies chegam até a superfície do eletrodo, ou seja, se por adsorção ou difusão (BRETT; BRETT, 1993; WANG, 2000).

Atualmente, a VC é pouco empregada para a quantificação de analitos de interesse (RAMDANI et al., 2013; CUMBA et al., 2016), devido ao surgimento das técnicas de pulso, como a VOQ e VPD (BARD; FAULKNER, 2001; DE SOUSA et al., 2004; PACHECO et al., 2013)

A sensibilidade obtida com o emprego das técnicas de VOQ e VPD é maior em relação a VC pela minimização da interferência da corrente capacitiva na medida da corrente faradaica, pois, nelas ocorre uma subtração entre as correntes medidas um pouco antes da aplicação do pulso e novamente no final, quando a corrente capacitiva decai, resultando numa melhora significativa da técnica, implicando na obtenção de menores valores de LD das medidas. Quando plotada a corrente versus o potencial aplicado obtém-se um voltamograma, cuja a altura do pico de oxidação/redução é proporcional à concentração do analito estudado (BARD e FAULKNER, 2001; USLU; OZKAN, 2011; PACHECO et al., 2013; SCHOLZ, 2015).

A VPD é popular por alcançar limites de detecção muito baixos (entre 10^{-7} a 10^{-8} mol L⁻¹) em determinações analíticas de compostos eletroativos (GREEF; PEAT; PETER, et al., 1985; SOUSA et al., 2003; HAMANN et al. 2007). A literatura descreve trabalhos empregando a VPD na determinação de herbicidas (DUARTE et al, 2018), do anti-inflamatório piroxicam que obteve LD de 1,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (LOPES DE

MACEDO et al., 2018) e da hidroquinona, cujo valor de LD foi de $2,3 \text{ pmol}^{-1}$ (AMED et al., 2018) entre outros analitos.

A VOQ é outra técnica de pulso, que além da sensibilidade equivalente das técnicas cromatográficas e espectroscópicas destaca-se pela rapidez (DE SOUZA et al., 2004; GALLI et al., 2006). A análise dos seus parâmetros característicos subsidia tanto a avaliação cinética quanto mecanística do processo eletródico estudado. Na VOQ, a medida das correntes acontece no final do pulso direto e reverso, então o sinal é obtido com intensidade da corrente resultante, apresentando alta rejeição de correntes capacitivas. Os voltamogramas obtidos geralmente são simétricos, isso ocorre por que as correntes são medidas no final de cada semi-período e as variações na altura e largura do pulso são sempre constantes, considerando um determinado intervalo de potenciais (USLU; OZKAN, 2011; SCHOLZ, 2015).

Em comparação, as duas técnicas se diferem em relação a aplicação de pulso de potencial. Na VOQ a medida da corrente ocorre no final de cada pulso potencial independente do sentido, direto ou reverso. Além disso, a VOQ possibilita aplicação de 1 a 100 pulsos de onda quadrada por segundo, que proporciona maior velocidade nas análises alcançando até 1000 mV s^{-1} , enquanto que na DPV a varredura varia, geralmente, de 1 a 10 mV s^{-1} (DE SOUZA et al., 2004). Em vista disso, vários procedimentos analíticos empregando a VOQ são descritos na literatura (WEĞIEL et al., 2018; WONG et al., 2018; KUMAR e GOYAL, 2018; MEKASSA, et al., 2018; RUDNICKI et al., 2018).

1.4 ELETRODOS A BASE DE CARBONO NA ELETROANÁLISE

O carbono é um elemento particularmente encontrado em diversas formas na natureza, tendo em vista que, pode ligar-se indefinidamente consigo mesmo assumindo extensas combinações a partir de determinadas condições de processamento (FERRARI; REZENDE, 1988). Atualmente, são reconhecidas três formas alotrópicas, diamante, grafite e fulereno e cada uma pode originar materiais com propriedades eletroquímicas diversas (SUN et. al., 2006; KISSINGER; HEINEMA, 1996; MCCREERY, 1991).

A classe moderna de materiais carbonáceos é composta pelos compósitos de carbono, diamante sintético, fulerenos e nanotubos de carbono, que com o avanço tecnológico adquiriram notoriedade no contexto científico (JENKINS; KAWAMURA, 1976; FERRARI; REZENDE, 1988; MCCREERY, 1991; WHITE, et al., 1994; GAEFKE, 2007).

Em eletroanálise, há uma vasta utilização de eletrodos a base de carbono devido a características como baixa corrente de fundo, adequada faixa de potencial de trabalho, inércia química e relativo baixo custo (KISSINGER; HEINEMA, 1996; WANG, 2000; SUN et. al., 2006; MCCREERY, 2008; ŠVORC, 2013; ROWLEY-NEALE; BANKS, 2013). Entretanto, dentre esses eletrodos a base de carbono, o eletrodo de diamante dopado com boro (EDDB) destaca-se pela ampla janela de potencial de trabalho, podendo ser empregado principalmente para a determinação de moléculas que apresentam elevado potencial de oxidação ou redução, como por exemplo, carisoprodol (2,0 V) (EISELE; VALEZI; SARTORI, 2017), loratadina (1,67 V) (EISELE; SARTORI, 2015), orfenadrina (1,67 V) (EISELE et al., 2013) e o ácido acetilsalicílico (1,97 V) (SARTORI et al., 2009), os quais foram determinados diretamente no EDDB, sem necessidade de modificações em sua superfície o que não seria possível em eletrodos convencionais.

1.5 FILMES DE DIAMANTE DOPADO COM BORO

O diamante é altamente cobiçado dentre os demais minerais (DE BARROS et al., 2005). Dessa maneira, sintetizá-lo em laboratório tornou-se uma alternativa viável para avaliar tanto suas características como potenciais aplicações.

Propriedades como alta dureza, condutividade térmica e força de flexão, torna-o apto para aplicação no setor mecânico. A baixa constante dielétrica, considerável isolamento elétrico e boa transparência óptica são exploradas no âmbito óptico-eletrônico e espacial. Na medicina, é empregado por conta da sua inércia química e baixo coeficiente de fricção. A área eletroquímica também se vale de suas propriedades, como a resistência química, caráter semicondutor, ampla janela potencial de trabalho e baixa corrente de fundo (DE BARROS et al., 2005; SHAMSA et al., 2008).

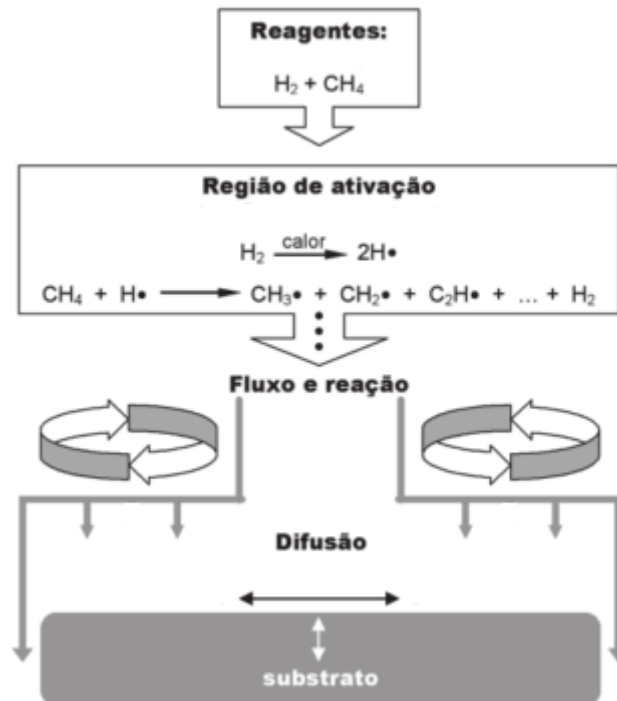
Em 1950 foram desenvolvidas duas técnicas que impulsionaram a síntese do diamante; a primeira delas, proposta por William Eversole que consiste na deposição química a partir da fase vapor (do inglês “*chemical vapor deposition*”, CVD) e a segunda, que se assemelha ao processo natural de formação do diamante, onde seu crescimento é susceptibilizado por alta-pressão/alta-temperatura (do inglês, “*high-pressure/high-temperature*”, HPHT).

Os parâmetros de crescimento utilizados em cada processo de produção possuem diferenças consideráveis, já que a CVD usa temperaturas de aproximadamente 1.270 K e pressões subatmosféricas, que variam entre 1.000 – 10.000 Pa. Enquanto o HPHT necessita de temperatura ≥ 1.670 K e pressão da ordem de 5×10^9 Pa (DE BARROS et al., 2005).

O processo CVD está restrito ao crescimento de grãos a partir dos pré-existentes ou de materiais de carbono e somente após o conhecimento consolidado a partir do desenvolvimento das técnicas de síntese optou-se por produzir diamante em substratos variados (FERREIRA et al., 1999; DE BARROS et al., 2005; DA SILVA et al., 2015).

A síntese por CVD (Figura 2) fez com que a aplicação dos filmes de diamante se tornasse vasta em diversos aspectos, isso se deve à facilidade em condições de produção em série, principal vantagem do método (BACHMANN; HAGEMANN, 1994; DE BARROS et al., 1997; FERREIRA et al., 1998). Atualmente, se tornou viável economicamente, tanto que aperfeiçoada permitiu que o crescimento dos filmes ocorra em diferentes substratos podendo tomar formatos variados, usando reatores de simples construção e manuseio (ANGUS, 2014; PLESKOV et al., 2016).

Figura 2: Esquema de síntese de filme de diamante pelo método de deposição química a partir da fase vapor.



FONTE: Adaptado (DE BARROS et al., 2005).

A técnica é considerada conveniente para preparação de eletrodos em laboratório e indústria, sendo de baixo custo na produção em grande escala. É baseada na deposição de um filme de diamante em determinado substrato, incluindo o próprio diamante a partir de condições termodinamicamente metaestáveis, onde ocorre a ativação de uma fase gasosa quando introduzida em um reator (PLESKOV et al., 2016).

Como fontes de carbono são empregados muitos tipos de reagentes, entre eles, o metano altamente diluído em hidrogênio e substâncias orgânicas que servem como fontes de carbono, como metanol, acetona e etanol. Uma fração mínima de oxigênio ou compostos halogenados é usada visando o aumento do crescimento ou da qualidade final dos filmes (DE BARROS et al., 1997; FERREIRA et al., 1998).

De Barros e colaboradores (2005) ressaltam que o crescimento dos filmes policristalinos gerados pelo método CVD contam com uma determinada quantidade de impurezas advindas de gases que não foram totalmente eliminados do reator

através do vácuo, ou mesmo por materiais usados no próprio reator: filamento, porta-substrato, tubos e quartzo. Ademais, os próprios átomos de carbono podem estabelecer entre si ligações sp^2 . O material obtido tem sua área superficial constituída por uma camada de hidrogênio em diferentes estágios de estruturação.

A única limitação conhecida é o aumento da pressão atmosférica. Assim, a taxa de crescimento é tecnicamente limitada pelo fornecimento de energia, que também limita a temperatura e o fluxo máximo de gás (SCHWANDER; PARTES, 2011).

O diamante é isolante com resistividade na ordem de $10^{16} \Omega \text{ cm}$, exceto o tipo IIb. Entretanto, o tratamento em plasma de hidrogênio faz com que esta, decaia para a faixa de $10^6 \Omega \text{ cm}$. Mesmo assim, este valor ainda é considerado alto na obtenção de materiais semicondutores (PELSKOV et al., 1987).

O diamante possui *band-gap* de 5,45 eV, que se refere a energia consumida para que os elétrons migrem da banda de valência para uma banda mais energética, a de condução. No processo de dopagem mais comum, utiliza-se o boro e seus derivados, pois, os três elétrons da camada de valência o torna receptor de elétrons do carbono do diamante, provocando a redução no *band-gap* transformando-o em material semicondutor e também por este ser facilmente incorporado na rede de diamante por ter um raio covalente pequeno. Assim, os seus átomos substituem os do carbono no caso do doping ser baixo, já em um alto nível de doping esses átomos são capazes de ocupar posições intersticiais (MAVRIN et al., 2008).

Levando em conta a semicondutividade do diamante natural IIb, foi possível promover o crescimento do diamante dopado com boro a baixas pressões, usando B_2H_6/CH_4 e grãos de diamante natural como substrato. Embora essa metodologia fosse um avanço significativo para a época (década de 50), a taxa de crescimento ($4 \times 10^{-5} \mu\text{m h}^{-1}$) era considerada muito baixa em relação ao que se consegue atualmente (PORFERL; GARDNER; ANGUS, 1973).

Os substratos envolvidos no processo de crescimento dos filmes de diamante dopados com boro são variados, entretanto, os mais utilizados são silício, tungstênio, molibdênio, titânio, grafite, carbono vítreo, liga Ti_6Al_4V , irídio, nióbio. O quesito mais importante para a escolha é a relação do parâmetro de rede e o coeficiente de dilatação térmica dos materiais, já que influem de modo a facilitar o

crescimento de um filme aderente e garantem a sua alta qualidade (DE BARROS et al., 2005).

O método de dopagem estabelecido ampliou as possibilidades de aplicações, incluindo na fabricação de eletrodos iniciada nos anos 90. Desde então, tem sido amplamente aplicado no desenvolvimento de técnicas eletroanalíticas para a determinação individual e/ou simultânea de compostos orgânicos e inorgânicos em diversas matrizes. As potencialidades do eletrodo estão ligadas à sua facilidade de manuseio, fraca adsorção de moléculas polares e apolares, principalmente pela larga janela de potencial em meio aquoso e não-aquoso, ocorrendo desprendimento de hidrogênio ocorre inicialmente em potenciais próximos a $-1,5$ V enquanto do oxigênio em $+2,5$ V vs Ag/AgCl ($\text{KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$) (PECKOVÁ; MUSILOVÁ; BAREK, 2009). Suffredini e colaboradores (2004) observaram que existe uma dificuldade da superfície eletródica em absorver espécies intermediárias de reação, levando a uma resistência à desativação.

Compostos como diborano (B_2H_6) além de ser facilmente encontrado, possibilita o controle da concentração do boro, porém é altamente tóxico, reativo e explosivo. No entanto, como não contém oxigênio e carbono em sua estrutura ele evita a inclusão de outros elementos no reator. O trimetilborato depende da diluição em acetona ou metanol para ser usado, isso sugere uma fonte adicional de carbono e oxigênio e por fim, o B_2O_3 e o $\text{B}(\text{OCH}_3)_3$, são mais comuns dentre os apresentados, não são tóxicos e têm alta disponibilidade. Outros agentes dopantes são enxofre, nitrogênio, fósforo e lítio. As concentrações usadas são muito variadas no processo, sendo em torno de 10 a 20.000 ppm, conferindo ao diamante propriedades semi-metálicas ou semicondutoras de acordo com o teor de boro aplicado (FUJIMORI; IMAI; DOI, 1986; DE BARROS et al., 2005).

A superfície do EDDB recém-preparada é terminada em hidrogênio. Entretanto, esta terminação pode ser facilmente mudada para oxigênio, por exposição da superfície a um plasma de oxigênio ou a uma solução de ácido forte em ebulição. Para isso também se passou a usar polarizações anódicas ou catódicas. Assim, pode-se ter o EDDB com terminações superficiais tanto de hidrogênio como de oxigênio (SUFFREDINI et. al., 2004).

A terminação em hidrogênio confere ao eletrodo natureza hidrofóbica já com terminações predominantes em oxigênio mostra uma forte tendência hidrofílica. A

superfície oxidada por meio do pré-tratamento anódico pode ser recuperada, por meio de um pré-tratamento catódico adequado e vice-versa (YAGI et al., 1999; HUPERT et al., 2003).

O pré-tratamento eletroquímico realizado garante um bom desempenho do eletrodo ao longo de um dia de trabalho, já que o mesmo não tem necessidade de renovação de superfície que é recorrente em eletrodos de ouro, platina, carbono vítreo e pasta de carbono. Este procedimento tem mostrado um aumento significativo do sinal analítico e aprimorado a seletividade desses dispositivos (PLESKOV; II, 2002; SUFFREDINI et al., 2004).

No EDDB, os radicais hidroxila eletrogerados em potenciais muito positivos interagem com moléculas de eletroatividade baixa, como por exemplo, a do ácido acetilsalicílico, permitindo a sua determinação direta em formulações farmacêuticas, sem a necessidade da etapa de hidrólise alcalina, que é necessária quando se utiliza outros tipos de eletrodos (SARTORI et al., 2009).

No grupo de pesquisa liderado pela Prof^a. Dr^a. Elen Romão Sartori (Laboratório de Eletroanalítica e Sensores – LAES), vários métodos voltamétricos para a determinação de fármacos utilizando o EDDB têm sido desenvolvidos. Recentemente, Moraes e colaboradores (2017) utilizaram o EDDB para determinar simultaneamente quatro anti-hipertensivos, besilato de anlodipino (AML), cloridrato de amilorida (AMI), hidroclorotiazida (HCTZ) e atenolol (ATN). Foi obtida uma faixa linear de concentração de 0,90 – 31, 8,7 – 125, 29 – 260 e 11 – 91 $\mu\text{mol L}^{-1}$ apresentando LD de 0,30, 0,09, 0,08 e 0,06 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para AML, AMI, HCTZ e ATN, respectivamente. Mattos et al., (2017) empregou o EDDB na determinação de ramipril (RAM) e hidroclorotiazida (HCTZ). Para a HCTZ obteve-se uma faixa linear de concentração de 2,46 – 36,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com LD de 18,2 nmol L^{-1} . Para RAM foi obtida uma faixa linear de 1,96 - 36,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com LD de 27,0 nmol L^{-1} . Salamanca-Neto e colaboradores (2016) propuseram dois métodos voltamétricos sendo um para a determinação individual de metropolol (MTP) que apresentou uma resposta linear numa faixa de concentração de 0,38 - 22 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com LD de 0,034 $\mu\text{mol L}^{-1}$. E o outro consistindo na determinação simultânea do MTP com sua associação, a HCTZ, que mostraram resposta linear na faixa de concentração de 0,51 - 18,7 e 1,23 - 22,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$, obtendo LD de 0,376 e 0,077 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para HCTZ e MTP, respectivamente.

Vários outros trabalhos empregando o EDDB foram reportados na literatura, na determinação de uma série de moléculas, tanto de forma individual, como nos casos de linuron (FIGUEIREDO-FILHO; SARTORI; FATIBELLO-FILHO, 2015), furosemida (MEDEIROS; BACCARIN; FATIBELLO-FILHO et al., 2016), índigo carmim (SILVA; PEREIRA; FATIBELLO-FILHO; et al., 2016), cumarina (MIYANO; CODOGNOTO, 2014), ácido úrico (CINKOVA; KIANIČKOVA; ŠVORC et al., 2018), flutamida (ŠVORC; OROVSKÁ; CINKOVÁ et al., 2017), ibuprofeno (ŠVORC; KIANIČKOVA et al., 2018), 17 α -etinilestradiol (PEREZ; SIMÕES; CODOGNOTO, 2016), teobromina (ŠVORC; HAŠŠO; SARAKHMAN et al., 2018) quanto em determinações simultâneas como no caso da ivermectina e levamisol (LOURENÇÃO; FATIBELLO-FILHO et al., 2016), de isômeros do naftol (BROCENSCHI; FATIBELLO-FILHO et al., 2017), carbendazim e carbaril (LIMA; SIMÕES; CODOGNOTO, 2017) e do par carbendazim e fenamifos (FRANCA; CODOGNOTO et al., 2012). Nesses trabalhos, os autores atestam o excelente desempenho analítico do EDDB para a determinação destes analitos mostrando reprodutibilidade e exatidão nos resultados obtidos, destacando-se frente a outros eletrodos de carbono.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Empregar o EDDB no desenvolvimento de um procedimento voltamétrico para a determinação de BIS em formulações farmacêuticas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Empregar a VC para estudos exploratórios do comportamento voltamétrico do BIS.
- Empregar a VC para calcular o número de elétrons envolvidos na reação eletroquímica do BIS.
- Caracterizar o tipo de processo que ocorre na reação eletroquímica.
- Estudar a influência do tipo de pré-tratamento do EDDB no perfil voltamétrico do BIS.
- Investigar o melhor valor de pH e o melhor eletrólito suporte para a determinação do BIS.
- Avaliar as técnicas voltamétricas de pulso, VOQ e VPD, para a construção da curva analítica para a determinação de BIS.
- Avaliar o efeito dos possíveis interferentes nas amostras analisadas.
- Aplicar o método desenvolvido na determinação de BIS em amostras farmacêuticas.
- Comparar estatisticamente os resultados obtidos com o método proposto com aqueles obtidos por um método espectrofotométrico descrito na literatura.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico e as soluções foram preparadas utilizando água ultrapura (resistividade = 18,2 MΩ cm, proveniente de um sistema Milli-Q (Millipore®)). BIS e ácido sulfúrico foram obtidos da Sigma-Aldrich. Os ácidos acético, bórico, cítrico, láctico e fosfórico, bem como o hidróxido de sódio, acetona e metanol foram obtidos da Synth. As formulações farmacêuticas, de diferentes marcas, contendo BIS na dosagem de 5 mg foram adquiridas em uma farmácia local.

Para os estudos iniciais e estudo do melhor pH do eletrólito suporte, foi utilizada a solução tampão Britton-Robinson (BR). Esta solução tampão foi preparada adicionando 2,3 mL de ácido fosfórico 85 % (v/v), 2,7 mL de ácido acético 99,9 % (v/v) e 2,5 g de ácido bórico 99,9 % a um balão volumétrico de 1,0 L, com volume completado com água ultrapura. O pH da solução tampão BR foi ajustado para diferentes valores de pH com a adição de NaOH 2,0 mol L⁻¹. A solução tampão BR (pH 5,0) foi escolhida como eletrólito suporte para a determinação de BIS.

A solução estoque de BIS foi preparada na concentração de 10 mmol L⁻¹ utilizando acetona. As soluções de trabalho nas concentrações de 1000 e 100 μmol L⁻¹ foram preparadas pela diluição das soluções estoque de BIS em tampão BR (pH 5,0). As soluções estoque, bem como, as soluções de trabalho foram preparadas nos dias dos experimentos.

3.2 EQUIPAMENTOS

As medidas voltamétricas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato PGSTAT101 controlado pelo software NOVA 2.1.3 acoplado a uma célula eletroquímica de compartimento único com três eletrodos, incluindo uma placa de platina (0,5 × 0,5 cm²) como eletrodo auxiliar, um eletrodo auxiliar de Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) e um EDDB como eletrodo de trabalho.

O filme de diamante dopado com 8000 ppm de boro foi obtido da Adamant (Suíça). O EDDB foi soldando a base de silício do filme de DDB (que contém uma fina camada de ouro) na extremidade de uma haste contendo cobre (placa de circuito eletrônico) de 10 cm de comprimento, 0,5 cm de largura e 0,1 cm de espessura, sendo isolado com resina epóxi (Araldite®), para que somente a superfície do filme de diamante dopado com boro ficasse exposta para as medidas eletroquímicas, apresentando dessa forma, uma área de 0,28 cm².

O pH foi medido a 25,0 ± 1,0 °C usando um pHmetro HI-221 (Hanna Instruments, Estados Unidos da América), empregando um eletrodo de vidro combinado com um eletrodo de Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) como referência externa.

Para o método comparativo utilizou-se espectrofotômetro SP-2000UV/2000UVPC (Shanghai Spectrum, China) utilizando uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 1 cm com o comprimento de onda fixado em 254 nm.

3.3 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

O pré-tratamento eletroquímico foi realizado antecedendo as análises, uma vez ao dia. Para o pré-tratamento anódico (PTA) do EDDB foi aplicada uma densidade de corrente +0,25 A cm⁻² durante 60 s. Em seguida, foi realizado o pré-tratamento catódico (PTC), aplicando uma densidade de corrente de -0,25 A cm⁻² durante 240 s.

Para estudos preliminares do comportamento eletroquímico do BIS na superfície do EDDB foram utilizadas voltametria VC e VOQ. No desenvolvimento do procedimento eletroanalítico para a determinação do BIS foram empregadas a VOQ e VPD.

Para a determinação de BIS foram feitas adições sucessivas da solução de trabalho de BIS na célula eletroquímica, contendo 10 mL de solução tampão BR (pH 5,0). Voltamogramas de onda quadrada e de pulso diferencial foram obtidos após cada adição das soluções de trabalho.

As curvas analíticas foram construídas por meio de adições sucessivas da solução de trabalho do BIS considerando os parâmetros experimentais e instrumentais previamente selecionados.

O LD e o limite de quantificação (LQ) foram então calculados de acordo com a as equações fornecidas pela IUPAC em que:

$$LD = 3,3 \times \sigma / m \quad (\text{Eq. 1})$$

$$LQ = 10 \times \sigma / m \quad (\text{Eq. 2})$$

onde σ é desvio padrão de dez medidas da solução do branco dividido por m , que é o coeficiente angular da curva analítica (LONG; WINEFORDNER, 1983).

3.4 PREPARO DE AMOSTRAS

No preparo das amostras A e B (ambas na dosagem de 5 mg), 10 comprimidos de cada formulação analisada foram pesados e macerados em um graal com auxílio de um pistilo até a formação de um pó fino e homogêneo. A massa correspondente a 1 comprimido foi pesada e transferida para um balão volumétrico de 10 mL contendo acetona e submetido a sonicação durante 5 min. Para cada amostra, uma alíquota de solução diluída foi transferida diretamente para a célula eletroquímica contendo 10 mL de tampão BR (pH 5,0), gerando os voltamogramas correspondentes. As concentrações de BIS nas soluções das amostras foram determinadas diretamente pela interpolação nas curvas analíticas previamente construídas.

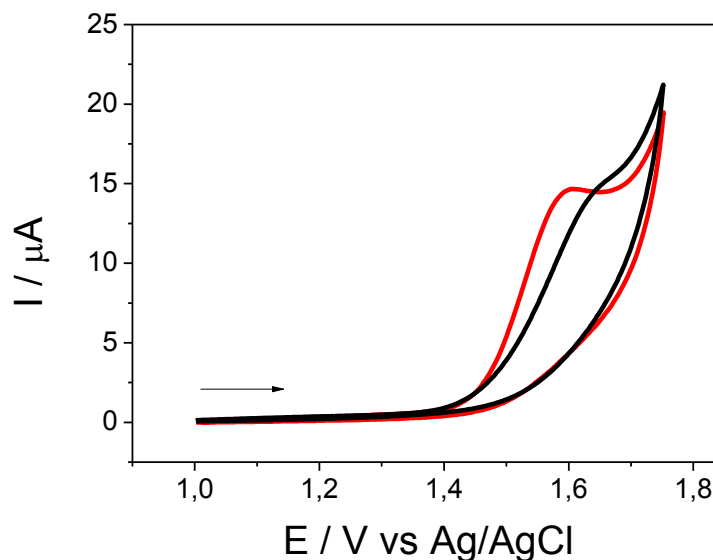
Para o método comparativo (ELVIS, 2011), 10 comprimidos de cada formulação analisada foram pesados e macerados. A massa correspondente a 1 comprimido foi pesada e transferida para um balão volumétrico de 100 mL, em seguida 4,0 mL dessa solução foram diluídos para 10 mL em metanol. A determinação de BIS foi realizada avaliando a absorbância dessa solução no comprimento de onda de 254 nm.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 COMPORTAMENTO VOLTAMÉTRICO DO BIS SOBRE O EDDB

O comportamento voltamétrico do BIS foi estudado por VC a 50 mV s^{-1} , em solução tampão BR (pH 5,0), comparando-se a superfície anódica com a catódica do EDBD. Os voltamogramas obtidos para BIS a $99 \mu\text{mol L}^{-1}$ estão apresentados na Figura 3.

Figura 3: Voltamogramas cíclicos (50 mV s^{-1}) obtidos em solução tampão BR (pH 5,0), para $99 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BIS usando o EDDB pré-tratado catodicamente (—) em solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ por cronopotenciometria aplicando densidade de corrente de $+0,25 \text{ A cm}^2$ (60 s) e um EDDB pré-tratado anodicamente (—) em solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ por cronopotenciometria aplicando densidade de corrente de $-0,25 \text{ A cm}^2$ (240 s).

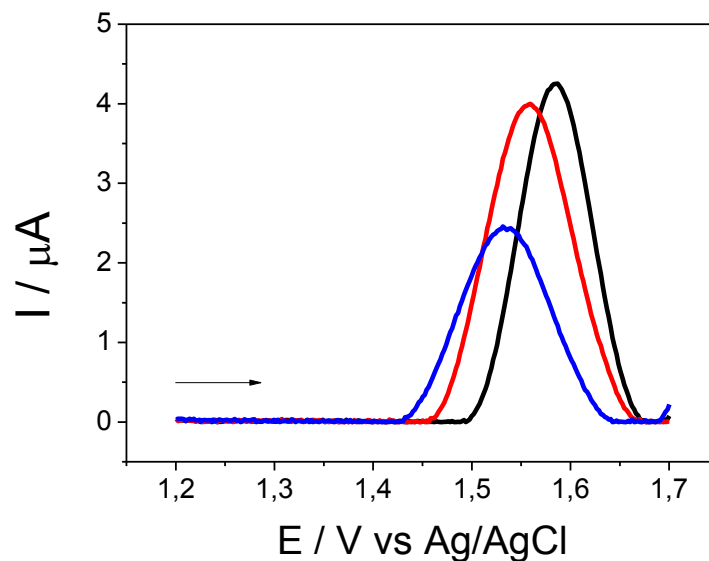


Como pode ser visto, o BIS exibe um pico de oxidação bem definido no potencial $1,55 \text{ V}$ quando se emprega o PTC, em um menor valor de potencial que aquele observado com o PTA. Para ambos tipos de pré-tratamento não foi observado pico no sentido da varredura reversa, logo, a reação eletroquímica é marcada pela irreversibilidade do processo de oxirredução (BARD e FAULKNER, 2001).

4.2 EFEITO DO pH E ELETRÓLITO SUPORTE

O pH é um importante fator analítico que exerce influência direta na resposta eletroquímica dos analitos, sendo assim, o comportamento voltamétrico de $99 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BIS foi avaliado em solução tampão BR com diferentes valores de pH (2,0 – 10,0) por VOQ, empregando um EDDB-PTC. A Figura 4 apresenta voltamogramas de onda quadrada, correspondentes a oxidação do BIS para alguns valores de pH, os quais obteve-se melhores respostas, considerando a repetibilidade e magnitude de corrente.

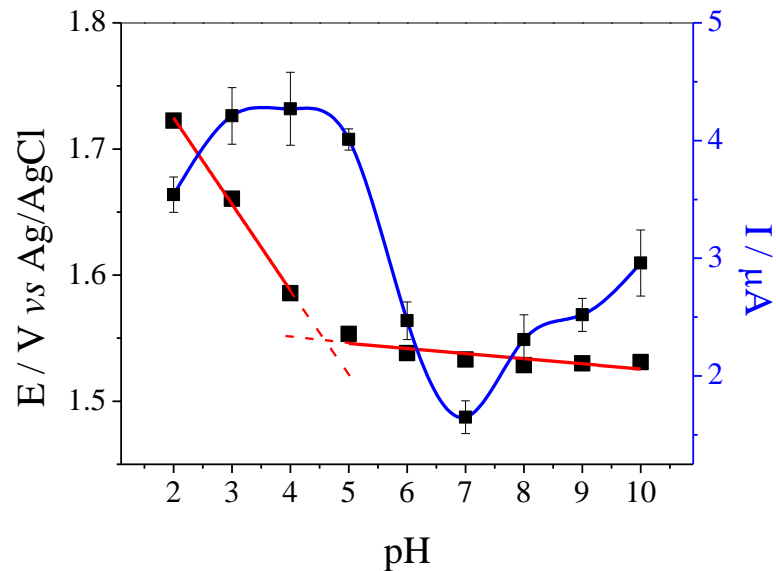
Figura 4: Voltamogramas de onda quadrada de $99 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BIS usando um EDDB-PTC em solução tampão BR em pH 4,0 (—), 5,0 (—), 6,0 (—). Parâmetros da VOQ: $f = 30 \text{ Hz}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.



Em relação aos valores apresentados no gráfico, percebe-se que o pH 4,0 apresentou maior intensidade de corrente, entretanto em pH 5,0 foi observado um menor valor de desvio padrão relativo (DPR) entre as medidas ($< 1,0\%$, $N = 5$) indicando melhor repetibilidade, dessa maneira o mesmo foi selecionado para a determinação do BIS.

A partir desse estudo também foi possível obter um gráfico de potencial de oxidação (E_{pa}) versus pH (Figura 5) onde é possível observar dois comportamentos distintos.

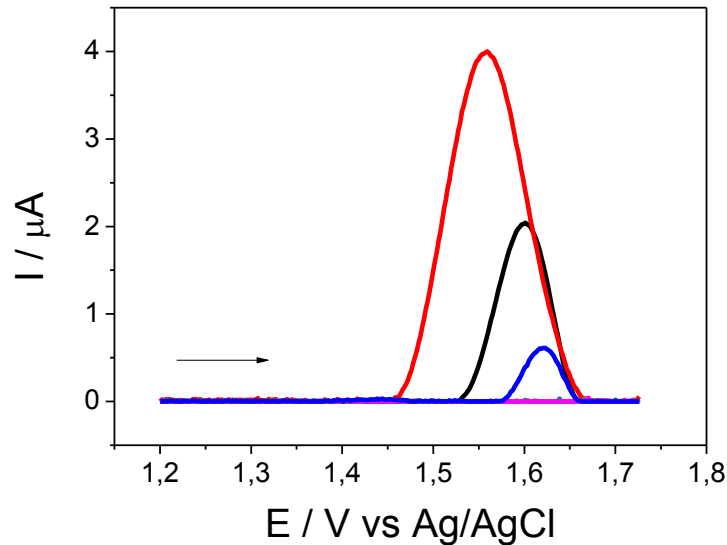
Figura 5: Relação entre o potencial de oxidação para $99 \mu\text{mol L}^{-1}$ BIS em diferentes valores de pH.



O primeiro intervalo (2,0 – 4,0) demonstra um deslocamento de E_{pa} do BIS para valores menos positivos a medida que o pH da solução é elevado, sendo forte indicativo da presença de prótons na reação de oxidação. O valor do coeficiente angular obtido nesse intervalo foi de $0,068 \text{ V pH}^{-1}$, muito próximo do valor teórico de $0,059 \text{ V pH}^{-1}$ (comportamento Nernstiano) (CODOGNOTO et al., 2008; BARD; FAULKNER, 2001). É válido ressaltar que no segundo intervalo que compreende os valores de pH 5,0 – 10,0 não foi observado deslocamento de E_{pa} e o baixo valor do coeficiente angular obtido exclui a participação de prótons na reação de oxidação do BIS na superfície do EDDB-PTC. Além disso, a interseção das duas retas obtidas no gráfico (Figura 5) apresenta o valor de pH de 4,59 correspondente ao valor de pK_a do BIS, próximo ao valor teórico de 4,69 (MARTINI, 2014).

Um estudo comparativo entre diferentes soluções tampão em pH 5,0 também foi realizado (Figura 6). Para tal empregou-se as seguintes soluções tampão: McIlvaine, citrato, lactato, BR, fosfato e acetato. Como pode ser observado, o BIS não apresentou pico de oxidação nos tampões McIlvaine, citrato e lactato.

Figura 6: Voltamogramas de onda quadrada de 99 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BIS usando o EDDB-PTC em diferentes soluções tampão em pH 5,0: (—) BR, (—) acetato, (—) fosfato, (—) Mc'Ilvaine, (—) citrato, (—) lactato. Parâmetros da VOQ: $f = 30 \text{ Hz}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$



Frente aos demais, o tampão BR apresentou maior magnitude de corrente, menor potencial de oxidação e melhor repetibilidade nas medidas, sendo escolhido como eletrólito suporte para estudos posteriores.

4.3 EFEITO DA VELOCIDADE DE VARREDURA

Voltamogramas cíclicos foram obtidos em tampão BR (pH 5,0) a diferentes velocidades de varredura ($5 - 500 \text{ mV s}^{-1}$) empregando o EDDB-PTC (Figura 7). Pode-se observar que a magnitude da corrente do pico aumenta à medida que a velocidade de varredura (v) é aumentada. O E_{pa} desloca-se para valores mais positivos, característica intrínseca de processos totalmente irreversíveis. Além disso, foi observada que a corrente de pico do BIS está linearmente relacionada com a raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$) (Figura 8), indicando que a corrente limite da reação é controlada principalmente pela difusão de moléculas de BIS do seio da solução à superfície do eletrodo (GOSSER, 1993).

Figura 7: Voltamogramas cíclicos obtidos em solução tampão BR (pH 5,0) de $99 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BIS, usando o EDDB-PTC em diferentes velocidades de varredura (a - l: $5 - 500 \text{ mV s}^{-1}$).

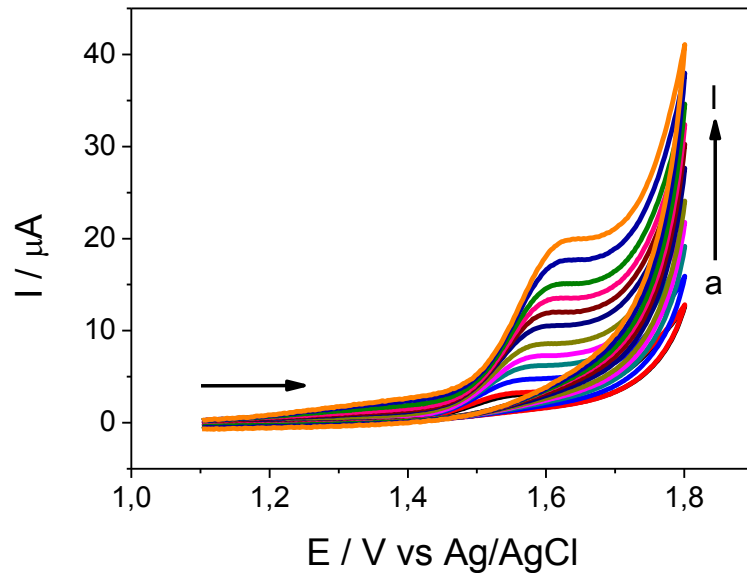
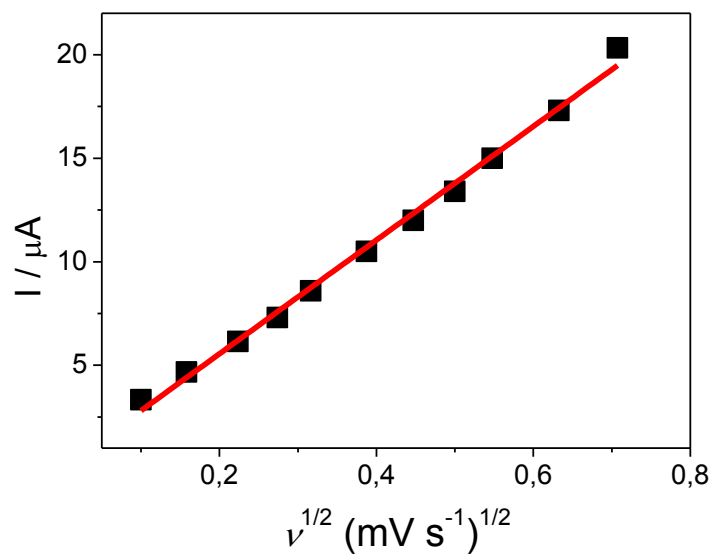


Figura 8: Relação linear entre corrente de pico e raiz quadrada da velocidade de varredura para voltamogramas cíclicos obtidos em solução tampão BR (pH 5,0) de $99 \mu\text{mol L}^{-1}$ usando EDDB-PTC em diferentes velocidades de varredura (a - k: $5 - 400 \text{ mV s}^{-1}$).



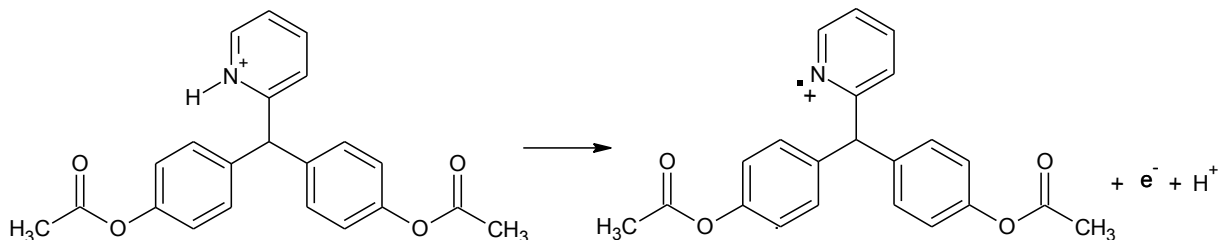
Também foi verificada a relação entre o logaritmo da corrente de pico e o logaritmo da velocidade de varredura para BIS em solução tampão BR (pH 5,0), sendo descrita pela equação de $\log I_{BIS} = 0,011 + 0,4903 \log v$ ($R^2 = 0,994$). Dessa maneira, o valor do coeficiente angular da reta próximo ao valor teórico de 0,5, confirmando que a oxidação do BIS é um processo difusional (GOSSER, 1993; GARCIA et al., 2007).

A partir da Equação 3 e do voltamograma cíclico obtido a 50 mV s^{-1} foi possível estimar o número de elétrons (n) envolvidos na oxidação do BIS na superfície do EDDB-PTC (GOSSER, 1993; BARD; FAULKNER, 2001).

$$E_{pa} - E_{pa/2} = 47,7 \text{ mV} / \alpha n \quad (\text{Eq. 3})$$

Em que E_{pa} é o potencial de oxidação (pico anódico), $E_{pa/2}$ corresponde o potencial relacionado a metade do valor da corrente para E_{pa} , e α representa o coeficiente de transferência de carga (0,5 - para sistemas irreversíveis). Para o BIS os valores de E_{pa} e $E_{pa/2}$ foram 1,590 e 1,505 V, respectivamente, em solução tampão BR (pH 5,0). Dessa forma, o valor de n calculado para a oxidação do BIS sobre a superfície do EDDB-PTC é igual a 1,05 que é próximo de 1, indicando que um elétron está envolvido na oxidação do BIS (GOSSER, 1993; BARD; FAULKNER, 2001). A Figura 9 mostra um possível mecanismo para a reação de oxidação do BIS na superfície do EDDB-PTC.

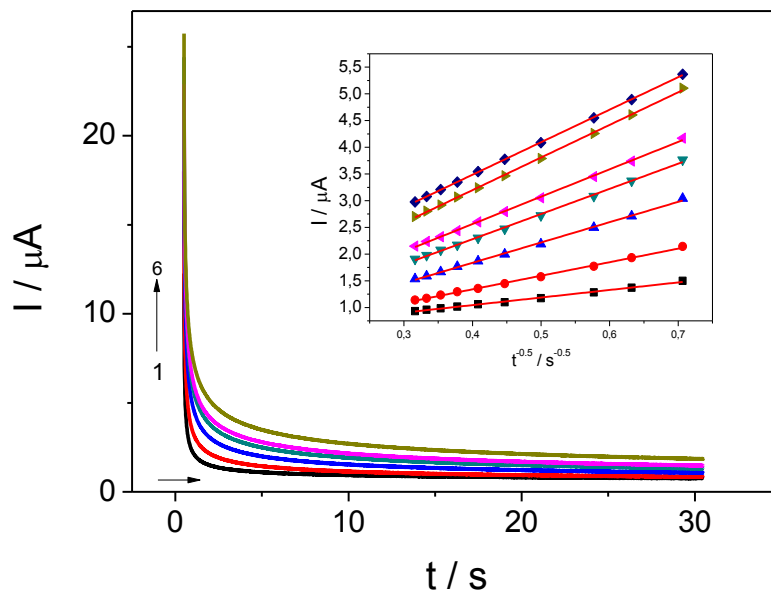
Figura 9: Proposta de mecanismo para a reação de oxidação do BIS na superfície do EDDB-PTC.



O coeficiente difusional (D_0) para o BIS empregando o EDDB-PTC em tampão BR (pH 5,0) foi estimado experimentalmente empregando a cronoamperometria. O

potencial foi fixado em 1,60 V e os cronoamperogramas foram obtidos durante 30 s (Figura 10).

Figura 10: Cronoamperogramas obtidos da utilização do EDDB-PTC em solução tampão BR (pH 5,0) com potencial fixado em 1,60 V durante 30 s na faixa de concentração de 1,99 – 29,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$.



Nesse experimento variou-se a concentração do BIS de 1,99 a 29,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ como apresentado na Figura 10. O coeficiente angular do gráfico de I (μA) vs $t^{-1/2}$ ($\text{s}^{-1/2}$) foi empregado na equação de Cottrell (Eq. 4) (BARD; FAULKNER, 2001).

$$I = \frac{nFAC_o D_o^{1/2}}{\pi^{1/2} t^{1/2}} \quad (\text{Eq. 4})$$

em que n = é o número de elétrons envolvidos da reação de eletrooxidação calculados anteriormente, F é a constante de Faraday (96485 C), A é a área geométrica do eletrodo (cm^2) e C_o é a concentração (mol cm^{-3}). O valor determinado, em triplicata, foi $2,70 (\pm 0,12) \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, sendo inédito na literatura.

4.4 DETERMINAÇÃO DO BIS USANDO O EDDB-PTC

As técnicas VOQ e VPD foram utilizadas para a determinação de BIS. Com isso, a influência dos parâmetros operacionais intrínsecos de cada técnica foi avaliada (Tabela 1) afim de averiguar a máxima detectabilidade e sensibilidade por meio da corrente de pico. Este estudo foi realizado utilizando o EDDB-PTC e BIS a $49 \mu\text{mol L}^{-1}$.

As variáveis estudadas para a VOQ foram: frequência (f), amplitude (a) e incremento de potencial (ΔE_s). Já na VPD, foram investigadas: amplitude (a), velocidade de varredura (ν) e tempo de modulação (tm). Nesse estudo, cada parâmetro foi avaliado individualmente, fixando os outros dois.

Tabela 1: Parâmetros instrumentais da VOQ e VPD avaliados para a determinação de BIS em solução tampão BR (pH 5,0)

| Técnica | Parâmetros | Intervalo estudado | Valor selecionado |
|---------|-----------------------------|--------------------|-------------------|
| VOQ | f (Hz) | 10 – 100 | 20 |
| | a (mV) | 10 – 80 | 60 |
| | ΔE_s (mV) | 1 – 10 | 4 |
| VPD | a (mV) | 10 – 200 | 80 |
| | ν (mV s ⁻¹) | 2 – 30 | 12,5 |
| | tm (ms) | 1 – 15 | 5 |

O estudo da frequência da VOQ possibilita também estimar o valor de n . Dessa forma foi plotado E_{pa} versus o logaritmo da frequência, observando-se relação linear ($R^2 = 0,994$). O coeficiente angular obtido (0,1295) substitui o termo $\Delta E/\Delta \log f$ na Equação 5:

$$\Delta E/\Delta \log f = 2,3RT/\alpha nF \quad (\text{Eq. 5})$$

Substituindo $\alpha = 0,5$, n resultou em 1,02 (~ 1), sugerindo que há perda de um elétron na oxidação do BIS na superfície do EDDB-PTC, confirmando o valor obtido pelo estudo da velocidade de varredura.

Após a otimização das condições experimentais e instrumentais, foram construídas curvas analíticas empregando a VOQ e VPD usando EDDB-PTC. Os parâmetros analíticos e seus respectivos valores estão apresentados na Tabela 2. Nessa tabela também é apresentado os resultados obtidos para o estudo de repetibilidade empregando as técnicas VOQ e VPD. A repetibilidade intra-dia da magnitude de corrente de pico foi obtida a partir de medidas sucessivas ($N = 10$) de $19 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BIS. As avaliações da repetibilidade inter-dia foram realizadas com a mesma concentração em soluções preparadas diariamente durante 4 dias ($N = 4$). Pode-se observar que melhores resultados em termos de DPR (abaixo do limite tolerável de 5% (BARROS NETO et al., 2010)), maior faixa linear de concentração e maior coeficiente angular foram obtidos empregando a VPD; logo, escolheu-se a mesma para a determinação do BIS nas formulações farmacêuticas.

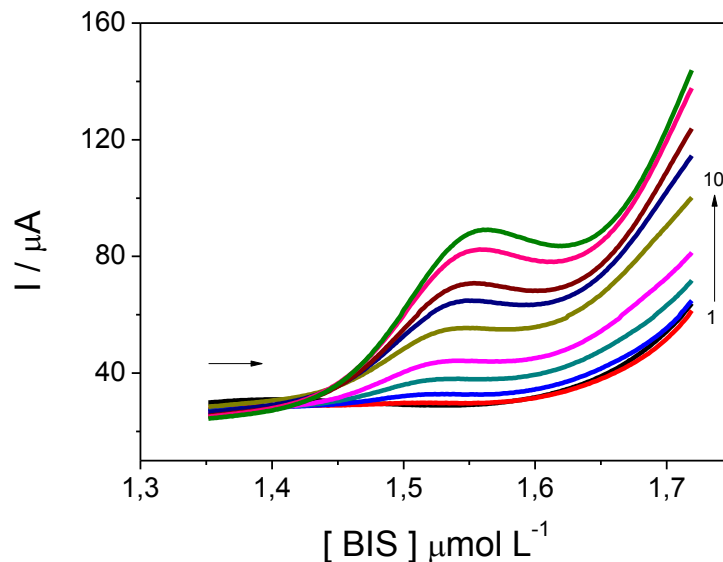
Tabela 2: Parâmetros analíticos obtidos para a determinação de BIS por VOQ e VPD em solução tampão BR (pH 5,0) usando um EDDB-PTC

| Parâmetros obtidos | VPD | VOQ |
|---|--------------------|--------------------|
| Potencial de pico (V) | 1,55 | 1,59 |
| Intervalo linear de concentração ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | 1,00 – 44,0 | 1,99 – 21,9 |
| Coeficiente de determinação, R^2 | 0,999 | 0,999 |
| Coeficiente angular ($\mu\text{A mol}^{-1} \text{L}$) | $4,64 \times 10^5$ | $1,33 \times 10^5$ |
| Coeficiente linear (μA) | -0,163 | -0,016 |
| LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | 0,353 | 0,721 |
| Repetibilidade intra-dia (DPR %) | 3,16 | 6,76 |
| Repetibilidade inter-dia (DPR %) | 4,16 | 8,36 |

Na Figura 11 estão representados os voltamogramas de pulso diferencial para o intervalo de concentração de 1,00 – 44,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

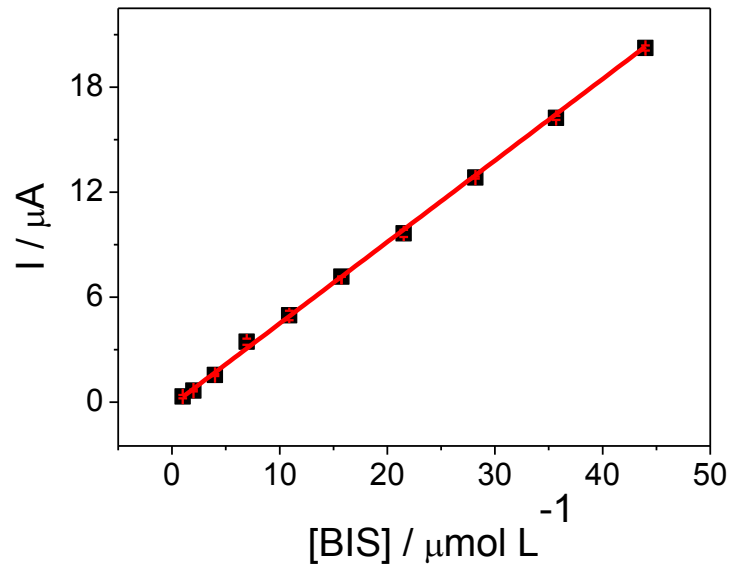
$$I_{\text{BIS}}/\mu\text{A} = -0,163 + 4,64 \times 10^5 [c/ (\mu\text{mol L}^{-1})] \quad (R^2= 0,999) \quad (\text{Eq. 6})$$

Figura 11: Voltamogramas de pulso diferencial em solução tampão BR (pH 5,0) obtidos a partir da utilização de EDDB-PTC para as seguintes concentrações de BIS: (1) 0, (2) 1,00 (3) 3,98, (4) 6,95, (5) 11,0, (6) 15,7, (7) 21,5, (8) 28,2 (9) 35,7, (10) 44,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Parâmetros da VPD: $a = 80 \text{ mV}$, $tm = 5 \text{ ms}$ e $v = 12,5 \text{ mV s}^{-1}$.



A Figura 12 mostra a curva analítica construída na VPD. Observou-se uma linearidade entre a concentração de BIS e a corrente de pico na faixa de 1,00 – 44,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e um LD de 0,353 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e o limite de quantificação determinado foi de 1,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A curva analítica pode ser representada pela Equação 6:

Figura 12: Curva analítica obtida a partir dos voltamogramas de pulso diferencial apresentados na Figura 11, para o intervalo de concentração de BIS de 1,00 – 44,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$.



A Tabela 3 mostra a comparação dos limites de detecção, faixa linear de concentração de outros métodos descritos na literatura para a determinação de BIS, juntamente com características as analíticas.

Tabela 3: Características dos procedimentos analíticos para a determinação de BIS previamente reportados na literatura em comparação ao procedimento proposto.

| Técnica | Intervalo linear de concentração ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | Características Analíticas | Referência |
|----------------|---|---|--|--------------------------|
| CLAE | 83,01 – 830,1 | 20,75 | - Utilização de solventes. - Tratamento de amostra - Tempo de análise em torno de 17 minutos. | (ALI, 1979) |
| CG-EM | 96,06 - 2401 | 0,090 | - Derivatização da amostra. - Extração com solvente. - Emprego do gás hélio. | (KOK et al., 1981) |
| CLAE | Não informado | 27,67 | - Extração com solvente. - Preparo de amostra tedioso - Possibilidade de até 13 análises/hora. | (FULLINFAW et al., 1988) |
| CLAE-UV | 58,02 – 194,2 | 0,553 | - Uso de solventes. - Derivatização da amostra (24 h). | (BRADSHAW et al., 1995) |

| | | | | |
|------|---------------|---------------|--|---------------------------|
| | | | - Possibilidade de até 4 análises/hora. | |
| CCD | Não informado | 0,276 | - Possibilidade de até 3 análises/hora. - Extração com solvente. | (CAMPBELL e SHERMA, 2003) |
| CLAE | 13,83 – 221,3 | 2,047 | - Detecção amperométrica empregando o eletrodo de ouro. - Utilização de solvente - Possibilidade de até 3 análises/hora. | (MURATT et al., 2018) |
| UV | 5,53 – 83,01 | 0,830 | - Derivatização da amostra com alta demanda de tempo empregando solvente orgânico. | (ABDEL-HAY et al., 2004) |
| UV | 1,38 – 13,83 | 0,229 | - Complexação da amostra com muitas etapas envolvendo o uso de solvente orgânico. | (AHMAD et al., 2011) |
| UV | 11,10 – 55,34 | Não informado | - Utilização de solvente orgânico. | (ELVIS e DEEPALI, 2011) |
| UV | 5,534 – 38,73 | Não informado | - Etapas de tratamento de amostra com solventes. - Tratamento matemático dos dados | (METWALLY et al., 2007) |

| obtidos. | | | | |
|----------------|---------------|----------------------|---|--------------------------|
| Potenciometria | 80,00 – 5000 | 42,01 | - Complexação da amostra. | (MALEKI et al., 2006) |
| | | | - Eletrodo de ouro. | |
| AdSVOQ | 0,008 – 14,50 | $1,0 \times 10^{-6}$ | - Interferência no sinal analítico | (DANESHGAR et al., 2009) |
| | | | - Tratamento matemático complexo | |
| | | | - Custo instrumental relativamente baixo. | |
| VPD | 1,00 – 44,00 | 0,353 | - Tempo rápido de análise com possibilidade de até 21 análises/hora. | Este trabalho |
| | | | - Sem necessidade de tratamento na amostra ou etapas de extração. | |
| | | | - Uso de pequeno volume de acetona, apenas para o preparo da amostra. | |

Os dados apresentados indicam as vantagens dos parâmetros analíticos do método proposto para a determinação do BIS em relação aos demais métodos. Os métodos cromatográficos como de Kok e colaboradores (1981) e Campbell e Sherma (2003) obtiveram LD menor ou próximo ao deste trabalho, para a determinação indireta do BIS, entretanto, o tempo para o preparo amostral foi superior devido a maior quantidade de etapas no processo de derivatização. Os demais métodos espectrofotométricos e potenciométricos não se mostraram superiores tendo em vista que as características analíticas do método desenvolvido são mais viáveis: baixo LD, quantidade mínima de solvente orgânico (acetona) para dissolução da amostra e tempo rápido de análise. Dessa forma, o método proposto utilizando um EDDB-PTC com VPD, mostra-se como alternativa eficaz para a determinação rápida do BIS sem necessidade de pré-concentração possibilitando análises do BIS em medicamentos comerciais de forma rápida, precisa e exata, já que para análises de rotina, é mais eficaz que se adote métodos que expressem exatidão nos resultados, e sobretudo, sejam simples. A exatidão do método será comprovada estatisticamente, comparando os seus resultados com aqueles obtidos por um método espectrofotométrico descrito na literatura (ELVIS, 2011).

4.5 APLICAÇÃO DO MÉTODO DESENVOLVIDO NA DETERMINAÇÃO DO BIS EM AMOSTRA FARMACÊUTICA

Inicialmente, avaliou-se o efeito de potenciais interferentes na determinação do BIS em formulações farmacêuticas, sendo eles: celulose microcristalina, lactose, estearato de magnésio, dióxido de titânio e óxido de ferro amarelo. Para analisar as possíveis variações de corrente foram utilizados $9,90 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BIS e a proporção usada foi 1:10 (solução padrão:excipientes). A Tabela 4 descreve os valores de recuperação do sinal analítico em triplicata. Comparou-se os sinais de corrente obtidos na análise dos interferentes com aqueles obtidos das medidas realizadas apenas com a solução padrão. Dessa forma, não foi observada diferença significativa, já que o maior DPR (%) entre os valores comparados foi de 2,14%. Sendo assim, os excipientes contidos na formulação não causam interferência significativa, nas condições experimentais descritas.

Tabela 4: Efeito de interferentes na recuperação do sinal analítico de $9,90 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BIS.

| Interferente | Recuperação do sinal analítico (%) |
|--------------------------|------------------------------------|
| Celulose microcristalina | $101,64 \pm 2,14$ |
| Dióxido de titânio | $96,93 \pm 0,17$ |
| Estearato de magnésio | $97,13 \pm 1,80$ |
| Lactose | $97,13 \pm 0,91$ |
| Óxido de ferro amarelo. | $98,71 \pm 0,93$ |

O método desenvolvido empregando o EDDB-PTC foi aplicado na determinação do BIS em comprimidos (A e B, ambos com dosagens de 5 mg). Ressalta-se que essa determinação foi realizada com tratamento simples da amostra (apenas dissolução em acetona), evidenciando a rapidez e viabilidade do método descrito.

A Tabela 5 apresenta os resultados obtidos pelo método proposto em comparação àqueles obtidos com o método espectrofotométrico (ELVIS et al., 2011).

Tabela 5: Resultados obtidos para determinação de BIS em formulações farmacêuticas utilizando o método proposto em comparação com o espectrofotométrico.

| Amostra | Quantidade (mg comprimido ⁻¹) ^a | | | E (%) ^b | F _{calc} ^c |
|---------|--|-----------------|-----------------|--------------------|--------------------------------|
| | Rotulado | UV-VIS | VPD | | |
| A | 5,0 | $4,82 \pm 0,09$ | $4,98 \pm 0,12$ | 3,32 | 1,77 |
| B | 5,0 | $5,03 \pm 0,14$ | $4,92 \pm 0,08$ | -2,19 | 3,06 |

^a Média de 3 medições.

^b $100 \times [(\text{método VPD} - \text{método UV-VIS}) / \text{método UV-VIS}]$.

^c Valor F crítico = 19,0 (nível de confiança de 95 %).

Observa-se que o emprego da VPD apresentou resultados em concordância com aqueles obtidos pelo método comparativo. A exatidão do método proposto foi avaliada aplicando o teste- t pareado. O valor obtido foi de 1,855, sendo menor que o valor de t crítico (2,571), apontando a semelhança estatística dos métodos comparados num intervalo de confiança de 95%. A análise da variância, examinada a partir do teste F , então, como apresentado na Tabela 5, todos os valores adquiridos a partir da aplicação deste, são menores em relação ao valor crítico tabelado (F crítico = 19). Logo, os métodos apresentam o mesmo nível de precisão a 95% de confiança.

Estudos de adição e recuperação foram realizados na VPD por meio da adição de volumes conhecidos da solução padrão de BIS nas amostras A e B. Valores de recuperação entre 99,1 e 102,3% foram obtidos, confirmando que a matriz da amostra não interfere na determinação de BIS.

5 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados apresentados, pode-se perceber a excelente eficiência do EDDB na determinação do BIS.

Todos os parâmetros instrumentais das técnicas VOQ e VDP foram otimizados, no entanto, a VPD se mostrou favorável para a determinação do BIS já que as curvas analíticas construídas nesta técnica mostraram maior intervalo linear de concentração, maior sensibilidade e baixo valor de LD em relação a VOQ.

A aplicação do método proposto em amostras farmacêuticas foi avaliada através de testes estatísticos em comparação com método espectrofotométrico onde foi possível comprovar a exatidão do método no nível de confiança de 95%.

O desempenho do método mostra sensibilidade, precisão, exatidão, simplicidade, rapidez, baixo custo relativo de instrumentação, além de ser ambientalmente favorável e a interpretação dos dados obtidos é isenta de manipulação matemática. O método pode ser aplicado diretamente nas amostras necessitando apenas de uma dissolução em um pequeno volume de acetona.

Todas essas características são potenciais indicativos da aptidão do método para análises de rotina para a determinação do BIS.

REFERÊNCIAS

ABDEL-HAY, M.H.; SABRY, S. M.; BARARY, M. H.; BELAL, T.S. Spectrophotometric determination of bisacodyl and piribedil. **Analytical Letters**, v. 37, p. 247-262, 2004.

AHMAD, N.R.; MAJID, N.A. Indirect spectrophotometric method for the determination of bisacodyl in commercial dosage forms and environmental water samples. **Iraq J Pharm**, v. 11, n. 2, p. 77-84, 2011.

AHMED, J.; RAHMAN, M. M.; SIDDIQUEY, I. A.; ASIRI, A. M.; HASNAT, M. A. Efficient hydroquinone sensor based on zinc, strontium and nickel based ternary metal oxide (TMO) composites by differential pulse voltammetry. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 256, p. 383-392, 2018.

ALI, S. L. Determination of bisacodyl and its hydrolysis products in bisacodyl formulations by high-performance liquid chromatography Bestimmung von Bisacodyl und seinen Hydrolyse produkten in Bisacodyl präparaten durch HPLC. **Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie**, v. 299, n. 2, p. 124-126, 1979.

ANDRADE, M. A.; SILVA, M.; MENDONÇA, S.; FREITAS, O. Assistência farmacêutica frente à obstipação intestinal no idoso. **Infarma**, v. 15, n. 9-10, p. 64-69, 2003.

ANGUS, J.C. Diamond synthesis by chemical vapor deposition: The early years. **Diamond and Related Materials**, v. 49, p. 77-86, 2014.

ARISTOV, N.; HABEKOST, A. Cyclic voltammetry - A versatile electrochemical method investigating electron transfer processes. **World Journal of Chemical Education**, v. 3, n. 5, p. 115-119, 2015.

BACHMANN, P.; HAGEMANN, H. Diamond chemical vapor deposition: gas compositions and film properties. **Mat. Res. Soc. Symp. Proc.**, v. 339, p. 267-277, 1994.

BALUCHOVÁ, S.; BAREK, J.; TOMÉ, L. I.; BRETT, C. M.; SCHWARZOVÁ-PECKOVÁ, K. Vanillylmandelic and Homovanillic acid: Electroanalysis at non-modified and polymer-modified carbon-based electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 821, p. 22-32, 2018.

BARD, A.J.; FAULKNER, L.R.; YORK, N.; BULLET, C.; BRISBANE, W.; TORONTO, S.E. **Electrochemical methods: fundamentals and applications**. 2 ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 2001.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. E.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: aplicações na ciência e na indústria**. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2010. 414p.

BHARUCHA, A. E. Constipation. **Best practice & research Clinical Gastroenterology**. v. 21, p. 709-731, 2007.

BHATTACHARYYA, R.; TUDU, B.; DAS, S.C.; BHATTACHARYYA, N.; BANDYOPADHYAY, R.; PRAMANIK, P. Classification of black tea liquor using cyclic voltammetry. **Journal of Food Engineering**, v. 109, p. 120-126, 2012.

BOLAT, G.; YAMAN, Y.T.; ABACI, S. Highly sensitive electrochemical assay for bisphenol a detection based on poly (CTAB)/MWCNTs modified pencil graphite electrodes. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 255, p. 140-148, 2018.

BRADSHAW, K. M.; BURNETT, J.; SIDHU, A. S. High-performance liquid chromatographic determination of bisacodyl in pharmaceutical dosage forms marketed in Australia. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical analysis**, v. 13, n. 11, p. 1355-1362, 1995.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº 571 de 2002**. Disponível: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2002/571_02re.htm> Acesso em Junho de 2018.

BRASIL, M. S. Farmacopéia brasileira. **Diário Oficial da União**, v. 1, p. 546, 2010.

BRETT, A.M.O.; BRETT, C.M.A. **Electrochemistry: Principles, Methods, and Applications**. 1 ed. Oxford University Press, 1933.

BRITISH. **British pharmacopoeia**. v. 39, p. 418-420, 2009.

BROCENSCHI, R. F.; SILVA, T. A.; LOURENCAO, B. C.; FATIBELLO-FILHO, O.; ROCHA-FILHO, R. C. Use of a boron-doped diamond electrode to assess the electrochemical response of the naphthol isomers and to attain their truly simultaneous electroanalytical determination. **Electrochimica Acta**, v. 243, p. 374-381, 2017.

BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman-12**. AMGH Editora, 2012.

CAMPBELL, A.N.; SHERMA, J. Development and validation of a High-Performance Thin-Layer Chromatographic method with densitometric detection for determination of bisacodyl in pharmaceutical tablets. **Acta Chromatographica**, n. 13, p. 109-116, 2003.

CINKOVA, K.; KIANIČKOVA, K.; STANKOVIĆ, D. M.; VOJS, M.; MARTON, M.; ŠVORC, L. The doping level of boron-doped diamond electrodes affects the voltammetric sensing of uric acid. **Analytical Methods**, v. 10, n. 9, p. 991-996, 2018.

CLAYTON, B.; STOCK, Y. **Fundamentos de Farmacologia**. 4^a ed. Loures: Lusociência, 2002. 1050 pgs.

CODOGNATO, L.; REYES, F. G.; WINTER, E.; & RATH, S. Comportamento eletroquímico da n-nitrosotiazolidina ácido carboxílico sobre eletrodos de ouro e merCúrio. **Química Nova**, 2008.

COLLETE, V. L.; ARAÚJO, C. L.; MADRUGA, S. W. Prevalence of intestinal constipation and associated factors a population-based study in Pelotas, Rio Grande do Sul State, Brazil, 2007. **Caderno de Saúde Pública**, v. 26, n^o 7, p. 1391-1402, 2010.

CUMBA, L. R.; FOSTER, C. W.; BROWNSON, D. A.; SMITH, J. P. ; INIESTA, J.; THAKUR, B.; BANKS, C. E. Can the mechanical activation (polishing) of screen-printed electrodes enhance their electroanalytical response?. **Analyst**, v. 141, n. 9, p. 2791-2799, 2016.

DA SILVA, L. M.; SANTOS, M. D.; BALDAN, M. R.; BELOTO, A. F.; FERREIRA, N. G. Boron doped ultrananocrystalline diamond films on porous silicon: Morphological, structural and eletrochemical characterizations. **Materials Research**, v. 18, p. 1407-1413, 2015.

DANESHGAR, P.; NOROUZI, P.; GANJALI, M.R. Rapid determination of bisacodyl in flow injection system combination by a novel sensitive adsorptive square-wave voltammetry. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 136, n. 1, p. 66-72, 2009.

DE BARROS, R. D. C. M.; RIBEIRO, M. C.; AN-SUMODJO, P.T.; JULIÃO, M. S. da S.; SERRANO, S. H. P.; FERREIRA, N. G. Filmes de diamante CVD dopado com boro. Parte I. Histórico, produção e caracterização. **Química Nova**, v. 28, n. 2, p. 317-325, 2005.

DE BARROS, R.C.M.; CORAT, E.J.; TRAVA-AIROLDI, V. J.; FERREIRA, N.G.; LEITE, N.F.; LEMOS, V.; IHA, K. Determination of gas phase reactive species by mass spectrometry in chlorine assisted hot-filament chemical vapor deposition of diamond. **Brazilian Journal of Physics**, v. 27, p. 142-145, 1997.

DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 81-89, 2003.

DE SOUZA, D.; CODOGNATO, L.; MALAGUTTI, A. R.; TOLEDO, R. A.; PEDROSA,

V.A.; OLIVEIRA, R. T. S.; MAZO, L. H.; AVACA, L.A. Voltametria de onda quadrada. Segunda parte: Aplicações. **Química Nova**, v. 27, p. 790-797, 2004.

DEL CIAMPO, I. R. L.; DEL CIAMPO, L.A.; GALVÃO, L. C.; FERNANDES, M. I. M. Constipação intestinal: Um termo desconhecido e distúrbio frequente não conhecido. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 24, p. 111-114, 2006.

DUARTE, E. H.; CASARIN, J.; SARTORI, E. R.; TARLEY, C. R. T. Highly improved simultaneous herbicides determination in water samples by differential pulse voltammetry using boron-doped diamond electrode and solid phase extraction on cross-linked poly (vinylimidazole). **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 255, p. 166-175, 2018.

EISELE, A. P. P.; CLAUSEN, D. N.; TARLEY, C. R. T.; DALL'ANTONIA, L. H.; SARTORI, E. R. Simultaneous square-wave voltammetric determination of paracetamol, caffeine and orphenadrine in pharmaceutical formulations using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. **Electroanalysis**, v. 25, n. 7, p. 1734-1741, 2013.

EISELE, A. P. P.; SARTORI, E. R. Simple and rapid determination of loratadine in pharmaceuticals using square-wave voltammetry and a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. **Analytical Methods**, v. 7, n. 20, p. 8697-8703, 2015.

EISELE, A. P. P.; VALEZI, C. F.; SARTORI, E. R. Exploiting the high oxidation potential of carisoprodol on a boron-doped diamond electrode: an improved method for its simultaneous determination with acetaminophen and caffeine. **Analyst**, v. 142, n. 18, p. 3514-3521, 2017.

ELVIS, A. M.; DEEPALI, M. G. Development and validation of UV spectrophotometric method for determination of bisacodyl in suppositories. **International Journal of PharmTech Research**, v. 3, p. 193-196, 2011.

EVANS, J.; VINCENT, C. A.; BRUCE, P. G. Electrochemical measurement of transference numbers in polymer electrolytes. **Polymer**, v. 28, n. 13, p. 2324-2328, 1987.

FERRARI, P. E.; REZENDE, M. C. Carbono polimérico: processamento e aplicação. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 6, n. 4, p. 35-42, 1998.

FERREIRA, N. G.; CORAT, E. J.; TRAVA-AIROLDI, V. J.; LEITE, N. F.; DEL BOSCO, E. Evidence of enhanced atomic hydrogen production with halogens in

diamond MWPACVD. **Diamond and Related Materials**, v. 7, p. 81-87, 1998.

FERREIRA, N. G.; SILVA, L. L. G.; CORAT, E. J.; TRAVA-AIROLDI, V. J.; IHA, K. Electrochemical characterization on semiconductors p-type CVD diamond electrodes. **Brazilian Journal of Physics**, v. 29, n. 4, p. 760-763, 1999.

FIGUEIREDO-FILHO, L. C. S.; SARTORI, E. R.; FATIBELLO-FILHO, O. Electroanalytical determination of the linuron herbicide using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode: comparison with a boron-doped diamond electrode modified with platinum nanoparticles. **Analytical Methods**, v. 7, n. 2, p. 643-649, 2015.

FOROOTAN, M.; BAGHERI, N.; DARVISHI, M. Chronic constipation: A review of literature. **Medicine**, v. 97, n. 20, 2018.

FRANCA, R. F.; DE OLIVEIRA, H. P. M.; PEDROSA, V. A.; CODOGNOTO, L. Electroanalytical determination of carbendazim and fenamiphos in natural waters using a diamond electrode. **Diamond and Related Materials**, v. 27, p. 54-59, 2012.

FU, Li et al. Square wave voltammetric quantitative determination of flavonoid luteolin in peanut hulls and Perilla based on Au NPs loaded boron nitride nanosheets. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 817, p. 128-133, 2018a.

FU, Li. et al Defects regulating of graphene ink for electrochemical determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid. **Talanta**, v. 180, p. 248-253, 2018b.

FUJIMORI, N.; IMAI, T.; DOI, A. Characterization of conducting diamond films. **Vacuum**, v. 36, n. 1-3, p. 99-102, 1986.

FULLINFAW, R. O.; BURY, R. W.; MOULDS, R. F. W. Screening procedure for stimulant laxatives in urine using high-performance liquid chromatography with diode array detection. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 433, p. 131-140, 1988.

GAEFKE, C. B. et al. Effect of furfuryl alcohol addition on the cure of furfuryl alcohol resin used in the glassy carbon manufacture. **Journal of applied polymer science**, v. 106, n. 4, p. 2274-2281, 2007.

GALLI, A.; DE SOUZA, D.; GARBELLINI, G. S.; COUTINHO, C. F.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 105, 2006.

GALVÃO-ALVES, J. Constipação intestinal. **JBM**, v. 101, p. 31-37, 2013.

GARCIA, A. F.; ROLLEMBERG, M. C. Determinação Voltamétrica do Herbicida Glifosato em Águas Naturais Utilizando Eletrodo de Cobre. **Química Nova**, v. 30, n. 7, 2007.

GARCIA, L. B.; MARIA, S.; BERTOLINI, M. G.; VALENÇA DE SOUZA, M.; FANHANI, M.S.; SANTOS, D.; OLSEN, C.; PEREIRA, M. Constipação intestinal: Aspectos epidemiológicos e clínicos intestinal. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 9, p. 153-162, 2016.

GOSSER, D. K. **Cyclic voltammetry: simulation and analysis of reaction mechanisms**. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1993.

GREEF, R; PEAT, R.; PETER, L. M; PLETCHER, D.; ROBINSON, J. **Instrumental methods in electrochemistry**. 1 ed. Chichester: Ellis Horwood Limited, 1985.

HAMANN, C. H.; HAMNETT, A.; VIELSTICH, W. Electrochemistry. 2 ed. **Completely Revised and Updated Edition, New York**, 2007.

HUPERT, M.; MUCK, A.; WANG, J.; STOTTER, J.; CVACKOVA, Z.; HAYMOND, S.; SWAIN, G. M. Conductive diamond thin-films in electrochemistry. **Diamond and Related Materials**, v. 12, n. 10-11, p. 1940-1949, 2003.

JEDLIŃSKA, K.; STRUS, M.; BAŚ, B. A. new electrochemical sensor with the Refreshable Silver Liquid Amalgam Film mult-Electrode for sensitive voltammetric determination of vitamin K2 (menaquinone). **Electrochimica Acta**, v.2, 2018.

JENKINS, G. M.; KAWAMURA, K. **Polymeric carbons: carbon fibre, glass and char**. Cambridge University Press, 1976.

KISSINGER, P. T.; HEINEMAN, W. R. **Laboratory techniques in electroanalytical chemistry**. CRC Press, 1996.

KOK, R. M.; FABER, D. B. Qualitative and quantitative analysis of some synthetic, chemically acting laxatives in urine by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography**, v. 222, p. 389-398, 1981.

KUMAR, N.; GOYAL, R. N. Silver nanoparticles decorated graphene nanoribbon modified pyrolytic graphite sensor for determination of histamine. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 268, p. 383-391, 2018.

LI, C. Electrochemical determination of dipyrindamole at a carbon paste electrode using cetyltrimethyl ammonium bromide as enhancing element. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 55, n. 1, p. 77-83, 2007.

LIMA, T.S.; SIMÕES, F. R.; CODOGNOTO, L. Simultaneous voltammetric determination of carbendazim and carbaryl in medicinal plant infusions with a boron-doped diamond electrode. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, v. 97, n. 8, p. 768-782, 2017.

LONG, G. L.; WINEFORDNER, J. D. Limit of detection a closer look at the IUPAC definition. *Analytical Chemistry*, v. 55, n. 7, p.712A – 724A, Jun. 1983.

LOPES DE MACEDO, I. Y.; ALECRIM, M. F.; GARCIA, L. F.; RIBEIRO DE SOUZA, A. Differential Pulse Voltammetric Determination of Piroxicam on Lanthanide Ferric Oxide Nanoparticles-Carbon Paste Modified Electrode. *Current Pharmaceutical Analysis*, v. 14, n. 3, p. 271-276, 2018.

LOURENÇÃO, B. C. **Determinação Voltamétrica Simultânea de Paracetamol e Cafeína e de Ácido Ascórbico e Cafeína em Formulações Farmacêuticas Empregando um Eletródo de Diamante Dopado Boro**. Dissertação de Mestrado – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

LOURENCAO, B. C.; MEDEIROS, R. A.; THOMASI, S. S.; FERREIRA, A. G.; ROCHA-FILHO, R. C.; FATIBELLO-FILHO, O. Amperometric flow-injection determination of the anthelmintic drugs ivermectin and levamisole using electrochemically pretreated boron-doped diamond electrodes. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 222, p. 181-189, 2016.

MALEKI, R.; MATIN, A. A.; JOUYBAN, A. A. membrane sensor a selective determination of bisacodyl in tablets. *Journal of the Chinese Chemical Society*, v. 53, n.3, p.613-618, 2006.

MALEKI, S. L.; LIVESEY, J. F. A rapid high-performance thin-layer chromatographic urine screen for laxative abuse. *Clinical Biochemistry*, v. 26, p. 179-181, 1993.

MANSO, C. I. M. P. **Consumo de laxantes particularmente de Sene numa Farmácia do Nordeste Transmontano Consumo de laxantes particularmente de Sene numa Farmácia do Nordeste Transmontano**. Dissertação de Mestrado - Instituto Politécnico de Bragança, Universidade de Salamanca, Bragança, 2013.

MARTINI, M. **Determinação de fármacos sintéticos em formulações farmacêuticas empregando métodos eletroquímicos e de separação**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2014.

MATTOS, G. J.; SCREMIN, J.; SALAMANCA-NETO, C. A. R.; SARTORI, E. R. The Performance of Boron-Doped Diamond Electrode for the Determination of Ramipril and its Association with Hydrochlorothiazide. **Electroanalysis**, v. 29, n^o4, p. 1180-1187, 2017.

MAVRIN, B. N.; DENISOV, V.N.; POPOVA, D.M.; SKRYLEVA, E.A.; KUZNETSOV, M.S.; NOSUKHIN, S.A.; TARENTIEV, S.A.; BLANK, V.D. Boron distribution in the subsurface region of heavily doped IIb type diamond. **Physics Letters, Section A: General, Atomic and Solid State Physics**, v. 372, p. 3914-3918, 2008.

MCCREERY, R. L. Advanced carbon electrode materials for molecular electrochemistry. **Chem. Rev**, v. 108, n. 7, p. 2646-2687, 2008.

MCCREERY, R. L. Carbon electrodes: structural effects on electron transfer kinetics. **Electroanalytical chemistry**, v. 17, p. 221-374, 1991.

MEDEIROS, R. A.; BACCARIN, M.; FATIBELLO-FILHO, O.; ROCHA-FILHO, R. C.; DESLOUIS, C.; DEBIEMME-CHOUVY, C. Comparative study of basal-plane pyrolytic graphite, boron-doped diamond, and amorphous carbon nitride electrodes for the voltammetric determination of furosemide in pharmaceutical and urine samples. **Electrochimica Acta**, v. 197, p. 179-185, 2016.

MEKASSA, B.; TESSEMA, M.; CHANDRAVANSI, B. S.; TEFERA, M. Square wave voltammetric determination of ibuprofen at poly (L-aspartic acid) modified glassy carbon electrode. **IEEE Sensors Journal**, v. 18, n. 1, p. 37-44, 2018.

METWALLY, F. H.; ABDELKAWY, M.; NAGUIB, I. A. Development and validation of three stability-indicating methods for determination of bisacodyl in pure form and pharmaceutical preparations. **Journal of AOAC international**, v. 90, n. 1, p. 113-127, 2007.

MIYANO, D. M.; LIMA, T.; SIMÕES, F. R.; LA-SCALEA, M. A.; OLIVEIRA, H. P.; CODOGNOTO, L. Electrochemical study of simple coumarin and its determination in aqueous infusion of Mikania glomerata. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 3, p. 602-609, 2014.

MOHAMMED, I. S.; NASSER, K. A.; MHEMEED, A. H. Spectrophotometric Determination of Bisacodyl in Pure and Pharmaceutical Preparation via Oxidative Coupling Organic Reaction. **Baghdad Science Journal**, v. 14, n. 1, p. 181-188, 2017.

MORAES, J. T.; SALAMANCA-NETO, C. A. R.; ŠVORC, L.; SARTORI, E. R. Advanced sensing performance towards simultaneous determination of quaternary mixture of antihypertensives using boron-doped diamond electrode. **Microchemical Journal**, v. 134, p. 173-180, 2017.

MOREIRA, A. P. L. **Determinação Cromatográfica e Eletroforética de Diuréticos e Laxantes em Formulações Farmacêuticas à base de Plantas Medicinais.** Dissertação de Mestrado – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

MURATT, D. T.; MÜLLER, L. S.; DAL MOLIN, T.; VIANA, C.; DE CARVALHO, L. M. Pulsed amperometric detection of pharmacologic adulterants in dietary supplements using a gold electrode coupled to HPLC separation. **Analytical Methods**, v. 10, n. 19, p. 2226-2233, 2018.

PACHECO, W.F.; SEMAAN, F.S.; DE ALMEIDA, V.G.K.; RITTA, A.G.S.L.; AUCÉLIO, R.Q. Voltamétrias: Uma breve revisão sobre os conceitos. **Revista Virtual de Química**, v. 5, p. 516-537, 2013.

PECKOVÁ, K.; MUSILOVÁ, J.; BAREK, J. Boron-doped diamond film electrodes — new tool for voltammetric determination of organic substances. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 39, n. 3, p. 148-172, 2009.

PELSKOV, Y.; SAKHAROVA, A.Y.; KROVOTA, M.D.; BOUILOV, L.L.; SPITSYN, B.V. Photoelectrochemical properties of semiconductor diamond. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 228, p. 19-27, 1987.

PEREIRA, A. V.; GARABELI, A. A.; SCHUNEMANN, G. D.; BORCK, P. C. Determinação da constante de dissociação (K_a) do captopril e da nimesulida- experimentos de química analítica para o curso de farmácia. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p. 1656-1660, 2011.

PEREZ, C.; SIMÕES, F. R.; CODOGNOTO, L. Voltammetric determination of 17α -ethinylestradiol hormone in supply dam using BDD electrode. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 20, n. 9, p. 2471-2478, 2016.

PLESKOV, Y. V.; II, P. Electrochemistry of Diamonds Films. **Russian Journal of Electrochemistry**, v. 38, n. 12, p. 1275-1291, 2002.

PLESKOV, Y. V.; KROVOTA, M. D.; ELKIN, V. V.; EKIMOV, E. A. Electrochemistry behaviour of boron-doped Diamond Compacts – a new electrode material. **Electrochimica Acta**, v. 201, p.208-273, 2016.

PORFERL, D. J.; GARDNER, N. C.; ANGUS, J. C. Growth of diamond seed crystals by vapor deposition. **Journal of Applied Physics**, v. 39, 2915-2922, 1973.

RAMDANI, O.; METTERS, J. P.; FIGUEIREDO-FILHO, L. C. S.; FATIBELLO-FILHO, O.; BANKS, C. E. Forensic electrochemistry: sensing the molecule of murder atropine. **Analyst**, v. 138, n. 4, p. 1053-1059, 2013.

ROERIG, J. L.; STEFFEN, K. J.; MITCHELL, J. E.; ZUNKER, C. Laxative abuse. **Digestive diseases (Basel, Switzerland)**, v. 6, p. 15-29, 1988.

ROWLEY-NEALE, S. J.; BANKS, C. E. Biosensors — Microelectrode Design and Operation. 2013.

RUDNICKI, K.; LANDOVÁ, P.; WROŃSKA, M.; DOMAGAŁA, S.; ČÁSLAVSKÝ, J.; VÁVROVÁ, M.; SKRZYPEK, S. Quantitative determination of the veterinary drug monensin in horse feed samples by square wave voltammetry (SWV) and direct infusion electrospray ionization tandem mass spectrometry (DI-ESI-MS/MS). **Microchemical Journal**, v. 141, p. 220-228, 2018.

SALAMANCA-NETO, C. A. R.; EISELE, A. P. P.; RESTA, V. G.; SCREMIN, J.; SARTORI, E. R. Differential pulse voltammetric method for the individual and simultaneous determination of antihypertensive drug metoprolol and its association with hydrochlorothiazide in pharmaceutical dosage forms. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 230, 630-638.

SANTOS, M. C. G.; VALEZI, C. F.; SCREMIN, J.; SARTORI, E. R. Oxidação do ciclopirox em eletrodo de diamante: estudo do comportamento voltamétrico e determinação eletroanalítica. **Orbital – The Electronic Journal of Chemistry**, v. 6, n. 3, p. 144-155, 2014.

SANTOS, S. B.; VALEZI, C. F.; SCREMIN, J.; SALAMANCA-NETO, C. A. R.; DALL'ANTONIA, L. H.; SARTORI, E. R. A simple square-wave voltammetric method for the determination of scopolamine in pharmaceuticals using a boron-doped diamond electrode. **Química Nova**, v. 37, n. 10, p. 1579-1583, 2014b.

SARTORI, E. R. **Determinação voltamétrica de analitos de interesse farmacêutico utilizando um eletrodo de diamante dopado com boro**. Tese de Doutorado – Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.

SARTORI, E. R.; MEDEIROS, R. A.; ROCHA-FILHO, R. C.; FATIBELLO-FILHO, O. Square-wave voltammetric determination of acetilsalicylic acid in pharmaceutical formulations using a boron-doped diamond electrode without the need of previous alkaline hydrolysis step. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.20, n. 2, p. 360-366, 2009.

SCHOLZ, F. Voltammetric techniques of analysis: the essentials. **ChemTexts**, v. 1,

p. 17, 2015.

SCHWANDER, M.; PARTES, K. A review of diamond synthesis by CVD processes. **Diamond and Related Materials**, v. 20, p. 1287-1301, 2011.

SETHI, S.; MIKAMI, S.; LECLAIR, J.; PARK, R.; JONES, M.; WADHWA, V.; SETHI, N.; CHENG, V.; FRIEDLANDER, E.; BOLLON, A.; LEMBO, A. Inpatient Burden of constipation in the United States: An analysis of national trends in United States from 1997 to 2010. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 109, p. 250-256, 2014.

SHAMSA, M.; GHOSH, S.; CALIZO, I.; RALCHENKO, V.; POPOVICH, A.; BALANDIN, A. A Thermal conductivity of nitrogenated ultrananocrystalline diamond films on silicon. **Journal of Applied Physics**, v. 103, 2008.

SILVA, T. A.; PEREIRA, G. F.; FATIBELLO-FILHO, O.; EGUILUZ, K. I. B.; SALAZAR-BANDA, G. R. Electroanalytical sensing of indigo carmine dye in water samples using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 769, p. 28-34, 2016.

SIPA, K.; BRYCHT, M.; LENIART, A.; URBANIAK, P.; NOSAL-WIERCINSKA, A.; PAŁECZ, B.; SKRZYPEK, S. β -Cyclodextrins incorporated multi-walled carbon nanotubes modified electrode for the voltammetric determination of the pesticide dichlorophen. **Talanta**, v. 176, p. 625-634, 2018.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; WEST, D. M.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. Tradução da 9ª Edição norte-americana, Editora Thomson, São Paulo-SP, 2015.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; WEST, D. M.; CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6ª ed. Porto Alegre: Editora Bookman, 2009.

SUFFREDINI, H. B.; PEDROSA, V. A.; CODOGNOTO, L.; MACHADO, S. A. S.; ROCHA-FILHO, R. C.; AVACA, L. A. Enhanced electrochemical response of boron-doped diamond electrodes brought on by a cathodic surface pre-treatment. **Electrochimica Acta**, v. 49, p. 4021-4026, 2004.

SUN, D.; ZHU, L.; ZHU, G. Glassy carbon ceramic composite electrodes. **Analytica chimica acta**, v. 564, n. 2, p. 243-247, 2006.

ŠVORC, L. Determination of caffeine: a comprehensive review on electrochemical methods. **Int. J. Electrochem. Sci**, v. 8, p. 5755-5773, 2013.

ŠVORC, Ľ.; BOROVSÁ, K.; CINKOVÁ, K.; STANKOVIĆ, D. M.; PLANKOVÁ, A. Advanced electrochemical platform for determination of cytostatic drug flutamide in various matrices using a boron-doped diamond electrode. **Electrochimica Acta**, v. 251, p. 621-630, 2017.

ŠVORC, Ľ.; HAŠŠO, M.; SARAKHMAN, O.; KIANIČKOVÁ, K.; STANKOVIĆ, D. M.; OTŘÍŠAL, P. A progressive electrochemical sensor for food quality control: Reliable determination of theobromine in chocolate products using a miniaturized boron-doped diamond electrode. **Microchemical Journal**, v. 142, p. 297-304, 2018.

ŠVORC, Ľ.; STREŽOVÁ, I.; KIANIČKOVÁ, K.; STANKOVIĆ, D. M.; OTŘÍŠAL, P.; SAMPHAO, A. An advanced approach for electrochemical sensing of ibuprofen in pharmaceuticals and human urine samples using a bare boron-doped diamond electrode. *Journal of* **Electroanalytical Chemistry**, v. 822, p. 144-152, 2018.

USLU, B.; OZKAN, S. A.; Electroanalytical Methods for the Determination of Pharmaceuticals: A Review of Recent Trends and Developments. **Analytical Letters**, v. 44, n. 16, p. 2644-2702, 2011.

VALEZI, C. F.; DUARTE, E. H.; MANSANO, G. R.; DALL'ANTONIA, L. H.; TARLEY, C. R. T.; SARTORI, E. R. An improved method for simultaneous square-wave voltammetric determination of amlodipine and enalapril at multi-walled carbon nanotubes paste electrode based on effect of cationic surfactant. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, 205, p. 234-243, 2014.

WALD, A. Constipation in the primary care setting: current concepts and misconceptions. **The American Journal of Medicine**, v. 119, n° 9, p. 736-739, 2006.

WALD, A. Constipation. **Jama**, v. 315, n. 2, p.185, 2016.

WANG, J. **Analytical electrochemistry**. 2 ed. New York: WILEY-VHC, 2000.

WANG, J. **Controlled-Potential Techniques**. Analytical Electrochemistry, 3 ed. John Wiley & Sons, Inc, 2006.

WEŃGIEL, J.; BURNAT, B.; SKRZYPEK, S. A graphene oxide modified carbon ceramic electrode for voltammetric determination of gallic acid. **Diamond and Related Materials**, v. 88, p. 137-143, 2018.

WHITE, J. L.; GOPALAKRISHNAN, M. K.; FATHOLLAHI, B. A processing window for injection of mesophase pitch into a fiber preform. **Carbon**, v. 32, n. 2, p. 301-310, 1994.

WONG, A.; SANTOS, A. M.; SILVA, T. A.; FATIBELLO-FILHO, O. Simultaneous determination of isoproterenol, acetaminophen, folic acid, propranolol and caffeine using a sensor platform based on carbon black, graphene oxide, copper nanoparticles and PEDOT: PSS. **Talanta**, v. 183, p. 329-338, 2018.

YAGI, I.; NOTSU, H.; KONDO, T.; TRYK, D.A.; FUJISHIMA, A. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, Tokyo, v. 473, p. 173-178, 1999.