

## Artigo

## Determinação Voltamétrica de Citrato de Sildenafil e Furosemida Utilizando Eletrodo Compósito Grafite-Parafina para Aplicação em Amostras de Interesses Farmacêutico e Toxicológico

Mendonça, R. X.; Buzzetti, P. H. M.; Silva, A. L.; Araujo, A. S.; Ponzio, E. A.; Semaan, F. S.\*

Rev. Virtual Quim., 2015, 7 (5), 1692-1708. Data de publicação na Web: 10 de julho de 2015

<http://www.uff.br/rvq>

### Voltammetric Determination of Sildenafil Citrate and Furosemide at Composite Electrodes of Graphite-Paraffin for Use in Samples of Pharmaceutical and Toxicological Interests

**Abstract:** Sildenafil citrate and furosemide are two drugs very well-known and used. Sildenafil citrate is a drug widely used and effective in the current treatment of erectile dysfunction, but it is also efficient in the treatment of pulmonary hypertension. Furosemide is a drug class of loop diuretics, so classified by acting on the loop of Henle. It is illegally used by athletes for weight loss and at masking doping substances. The quantification of pharmaceuticals have raised great interest in various aspects, for quality control, surveillance, testing of doping among others. This work aims to evaluate the applicability of handmade carbon based composite electrodes-paraffin voltammetry determination of sildenafil citrate and furosemide quickly and with low cost. Different parameters were evaluated for the determination of the cited pharmaceuticals and analytical curves were obtained with linear behavior in the range studied. For sildenafil citrate, the limit of detection and quantification were of  $9 \mu\text{mol L}^{-1}$  and  $27 \mu\text{mol L}^{-1}$ , respectively. To furosemide, the limit of detection was  $2.72 \mu\text{mol L}^{-1}$  and quantification  $9.06 \mu\text{mol L}^{-1}$ . The pH's electrochemical measurements were performed at pH 8.0 for sildenafil citrate and pH 5.3 for furosemide, with a peak of oxidation at +1.2 V and +1.1 V, respectively (vs Ag|AgCl). The recovery percentage verified for sildenafil citrate was 83 % and 81 % for two commercial samples. Moreover, the average recovery of the analyte, furosemide, in simulated synthetic urine samples was above 88 %.

**Keywords** Viagra; voltammetry; sildenafil citrate; furosemide; composite electrodes.

### Resumo

O citrato de sildenafil e a furosemida são dois fármacos muito conhecidos e utilizados. O citrato de sildenafil é um fármaco amplamente empregado e eficaz no tratamento atual da disfunção erétil, mas que também é eficiente no tratamento à hipertensão pulmonar arterial (HAP). A furosemida é um fármaco da classe dos diuréticos de alça, assim classificado por atuar na alça de Henle. É usado de maneira irregular por atletas para a perda de peso e no mascaramento de substâncias dopantes. A determinação de fármacos tornou-se fundamental para o controle de qualidade, fiscalização, testes de *dopping* entre outros. Este trabalho tem por objetivo avaliar a aplicabilidade do eletrodo compósito artesanal à base carbono-parafina na determinação voltamétrica do citrato de sildenafil e da furosemida de maneira rápida e com baixo custo. Foram avaliados diferentes parâmetros da técnica para a determinação dos fármacos citados, obtendo-se curvas analíticas com comportamento linear na faixa estudada. Para dois medicamentos comerciais do citrato de sildenafil, o limite de detecção e quantificação são de  $9 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $27 \mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente. Já para a furosemida o limite de detecção foi de  $2,72 \mu\text{mol L}^{-1}$  e de quantificação  $9,06 \mu\text{mol.L}^{-1}$ . As análises eletroquímicas foram realizadas em pH 8,0 para o citrato de sildenafil e de pH 5,3 para a furosemida, com pico de oxidação em +1,2 V e +1,1 V, respectivamente (vs Ag|AgCl). A recuperação obtida para o citrato de sildenafil foi de 83 % e 81 % para duas amostras comerciais, e para a furosemida em urina sintética, foi acima de 88 %.

**Palavras-chave:** Viagra; voltametria; citrato de sildenafil; furosemida; eletrodo compósito.

\* Universidade Federal Fluminense, Departamento de Química Analítica, CEP 24020-141, Niterói-RJ, Brasil.

✉ [felipesemaan@gmail.com](mailto:felipesemaan@gmail.com)

DOI: [10.5935/1984-6835.20150096](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150096)

## Determinação Voltamétrica de Citrato de Sildenafil e Furosemida Utilizando Eletrodo Compósito Grafite-Parafina para Aplicação em Amostras de Interesses Farmacêutico e Toxicológico

Raul X. de Mendonça,<sup>a</sup> Paulo Henrique M. Buzzetti,<sup>b</sup> Ana Luísa Silva,<sup>b</sup>  
André S. Araújo,<sup>a</sup> Eduardo A. Ponzio,<sup>b</sup> Felipe S. Semaan<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal Fluminense, Departamento de Química Analítica, CEP 24020-141, Niterói-RJ, Brasil.

<sup>b</sup> Universidade Federal Fluminense, Departamento de Físico-Química, CEP 24020-141, Niterói-RJ, Brasil.

\* [felipesemaan@gmail.com](mailto:felipesemaan@gmail.com)

*Recebido em 8 de maio de 2015. Aceito para publicação em 10 de julho de 2015*

### 1. Introdução

- 1.1. Técnicas voltamétricas para análises de fármacos
- 1.2. Eletrodos compósitos
- 1.3. Compósitos de parafina
- 1.4. Sildenafil (citrato) e Furosemida
- 1.5. Determinação de Sildenafil e Furosemida

### 2. Parte Experimental

- 2.1. Preparo do eletrodo compósito
- 2.2. Célula eletroquímica
- 2.3. Citrato de Sildenafil
- 2.4. Furosemida

### 3. Resultados e Discussão

- 3.1. Citrato de Sildenafil
- 3.2. Furosemida

### 4. Conclusão

## 1. Introdução

---

Os fármacos são substâncias responsáveis pelo alívio de dores, sintomas, tratamento de

doenças crônicas, como forma de estimular o desempenho físico e mental.<sup>1</sup> Porém, doses excessivas podem ser fatais, tornando fundamentais o controle de fabricação e de ingestão de medicamentos.

Buscando monitorar o consumo de drogas, medicamentos ou métodos específicos que por objetivo venham aumentar o desempenho de um atleta, é comum no esporte mundial a realização de exames de *dopping*, um exemplo de fiscalização do uso de fármacos.<sup>2</sup>

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é a organização responsável por produtos e serviços que possam afetar a saúde da população brasileira. Padrões procedimentais oficiais devem ser seguidos para assegurar a mínima qualidade dos produtos, tanto para a matéria prima como para o fármaco.<sup>3</sup>

### 1.1. Técnicas voltamétricas para análises de fármacos

Continuamente novos métodos de medição e análise de um princípio ativo nas formulações farmacêuticas tem surgido. Sendo mais vantajosos os de baixo custo e com rapidez nos resultados, principalmente se ainda extinguir etapas de pré-tratamento e extração da amostra e que sejam de fácil manuseio.<sup>4</sup>

Uma vertente que vem se destacando é a de desenvolvimento de novos eletrodos, que se dá principalmente devido aos novos desafios impostos por amostras de interesse clínico, hospitalar, ambiental, alimentício e fármacos.<sup>5-7</sup>

Frente a este interesse de estudo na aplicabilidade de eletrodos e as técnicas eletroanalíticas, está o interesse de se desenvolver procedimentos analíticos para alguns compostos com propriedades farmacológicas, como o citrato de sildenafil (CS) e a furosemida (FS), ambos fármacos popularmente consumidos.

### 1.2. Eletrodos Compósitos

Segundo Tallman e Petersen, eletrodos compósitos (EC) são materiais compostos

pela mistura de pelo menos uma fase condutora e uma isolante. Os EC são caracterizados quanto a proporção entre as fases isolante e condutora, que podem ser ajustadas para definir uma melhor resposta eletroquímica. A formulação pode garantir mais maleabilidade ou maior rigidez ao compósito, possibilitando desenvolver eletrodos de várias formas e tamanhos e, garante que possa ser adicionado um modificador químico sobre a superfície do eletrodo.<sup>8,9</sup>

A literatura é rica no que diz respeito à utilização de eletrodos compósitos como instrumento promissor na determinação de diferentes tipos de analitos, uma vez que estes são de baixo custo. Como sua fase condutora têm base em estruturas de carbono, eles podem ser utilizados em um longo intervalo de pH e em grandes faixas de potenciais, além de possuírem baixo tempo de relaxamento e uma resistência elevada, tais como o grafite-epóxi,<sup>10</sup> grafite-poliuretano,<sup>11</sup> grafite-silicone,<sup>12</sup> entre outros.<sup>13</sup>

### 1.3. Compósitos de parafina

A utilização de eletrodos compósitos de grafite-parafina (ECGP) possui todas as características citadas anteriormente como: baixo custo, podem ser usados por uma longa faixa de aplicação de pH, possuem alta resistência e baixo tempo de relaxamento. ECGP ainda tem a vantagem de ser facilmente encontrado no mercado, podendo ser utilizado sem maiores cuidados, fácil de manusear, possui matéria-prima barata, não é tóxico, é moldável em baixas temperaturas, fácil manutenção da superfície do eletrodo, uma vez que não precisa lixar excessivamente, pois ela é facilmente regenerada.<sup>14,15</sup>

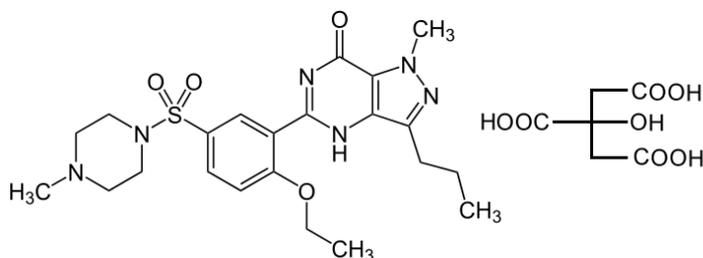
Neste artigo, o ECGP foi testado frente a dois analitos de classes diferentes, o CS e a FS, utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada, para verificar a versatilidade e a eficiência do eletrodo.

#### 1.4. Sildenafil (citrato) e furosemida

O citrato de Sildenafil, ou comercialmente conhecido como Viagra® (Figura 1), medicamento que ficou conhecido mundialmente como a droga do prazer sexual. Em 1998, o laboratório farmacêutico Pfizer® foi o pioneiro na síntese de CS, sendo o primeiro fármaco a ser aprovado pela *Food*

*and Drug Administration* (FDA) usado para o tratamento da disfunção erétil.<sup>16</sup>

A partir daí, o comércio mundial teve uma reviravolta nas vendas do “ouro azul”, tornando o Viagra® o medicamento mais vendido do mundo, chegando a 6 milhões de prescrições médicas, o que deu um lucro de bilhões de dólares em receita, isso apenas nos seis primeiros meses de comercialização.<sup>17</sup>



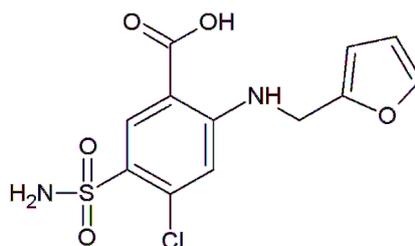
**Figura 1.** Fórmula estrutural do citrato de sildenafil (1-[[3-(6,7-diidro-1-metil-7-oxo-3-propil-1H-pirazol-[4,3-d]pirimidin-5-il)-4-etóxi]fenil]sulfonil]-4-metilpiperazina); massa molar 666,703 g mol<sup>-1</sup>; solúvel em metanol e pouco solúvel em água e em etanol<sup>14,18</sup>

Segundo o Formulário Hospitalar Americano (AHFS, 2006), a absorção após administração oral do sildenafil é relativamente alta, quando feita em jejum, as concentrações plasmáticas máximas (CPM) são atingidas entre 30 e 120 minutos e quando essa absorção é associada a alimentos, a taxa de absorção é reduzida, verificando um atraso médio de 60 minutos para atingir as CPM.<sup>19</sup>

O CS age liberando óxido nítrico (ON) durante o estímulo sexual, uma vez liberado na corrente sanguínea o ON ativa a enzima guanilato ciclase, permitindo que o monofosfato de guanosina cíclico (cGMP), que é a substância que controla o relaxamento do pênis, fique por um período maior na circulação sanguínea, consequentemente uma maior quantidade de fluxo sanguíneo no pênis, possibilitando a ereção por um tempo maior.<sup>20</sup>

A furosemida (Figura 2) é um fármaco da classe dos diuréticos de alça. Age no organismo como inibidor do simporte de Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>/2Cl<sup>-</sup>, sua classificação como diurético de alça se deve por tal simporte ocorrer na alça do Henle (um segmento do néfron, sendo este último a principal unidade formadora de urina no rim).<sup>21</sup>

Cerca de 65-70 % da furosemida são excretados integralmente pela urina.<sup>23</sup> A furosemida é indicada para o tratamento de edema pulmonar agudo, também é amplamente utilizado para tratamento de insuficiência cardíaca congestiva crônica e hipertensão arterial. Porém, é indevidamente utilizada visando a perda de peso e, vem sendo utilizada também como mascarante de substâncias dopantes no exame de *dopping* através da ingestão de medicamentos como Lasix®, Furesin®, Furosemide®, Rovelan®, Uripax®.



**Figura 2.** Fórmula estrutural da furosemida ((ácido 4-cloro-2-[(2-furilmetil)amino]-5-sulfamoilbenzóico)); massa molar 330,74 g mol<sup>-1</sup>; solúvel em solventes orgânicos<sup>22</sup>

### 1.5. Determinação de sildenafil e furosemida

Vários métodos já foram usados para determinação de CS e FS (Tabela 1). No entanto, a primeira técnica eletroquímica empregada para a detecção de CS foi voltametria de onda quadrada (VOQ) e

técnica de separação por adsorção de onda quadrada utilizando um eletrodo de mercúrio gotejante, como eletrodo de trabalho.<sup>24</sup> No caso da FS, o primeiro trabalho empregando método voltamétrico para determinação de FS foram as voltametrias de pulso (VP) e de VOQ utilizando eletrodo de carbono vítreo como eletrodo de trabalho.<sup>25</sup>

**Tabela 1.** Diferentes métodos de determinação de citrato de sildenafil e furosemida registrados na literatura

Analito	Técnica/método	Referência
Citrato de sildenafil	Cromatografia gasosa	26
	Espectrofotometria	27
	Cromatografia líquida de alta performance	28
Furosemida	Espectrofotometria	29
	Cromatografia líquida de alta performance	30
	Espectrofotometria	31
	Fluorimetria	32

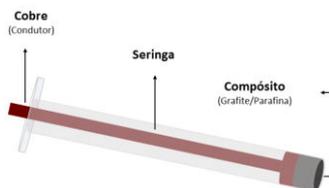
Contudo, um método que seja eficientemente sensível para a determinação de CS e FS é exigido, de preferência em menores ordens molares, para isso o objetivo desse trabalho foi otimizar um método de determinação de CS e FS em amostras reais de comprimidos comerciais de Viagra® e em urina sintética, respectivamente, por meio da técnica VOQ.

## 2. Parte Experimental

### 2.1. Preparo do eletrodo composto

O eletrodo composto foi preparado pela mistura de 0,80 g de grafite (Sigma Aldrich®, < 20 µm, EUA) e 0,20 g de parafina Solven Wax® 170/190 (Solven, Brasil). A mistura foi homogeneizada após fusão da parafina (~60 °C) e, empregada no corpo de uma seringa sob pressão, resultando no eletrodo

compósito da mistura de uma fase condutora (grafite) e outra isolante (parafina) com uma haste condutora de cobre para o contato elétrico (Figura 3).<sup>18,33</sup>



**Figura 3.** Esquema estrutural do eletrodo composto de grafite-parafina adaptado em uma seringa

## 2.2. Célula eletroquímica

O sistema eletroquímico consistiu em uma célula de três eletrodos. Foi utilizado como referência o eletrodo Ag|AgCl, contra eletrodo um fio de prata e o ECGP confeccionado como eletrodo de trabalho. A superfície do ECGP foi polida em papel a cada medida para remoção de impurezas adsorvidas. Com auxílio do potenciostato Ivium CompactStat® (Ivium Technologies, Holanda), controlado por Software IviumSoft® (IviumTechnologies) foi realizada a ativação eletroquímica do eletrodo por voltametria cíclica, com varredura de 100 mV s<sup>-1</sup>, degrau de potencial de 25 mV, cobrindo faixa de potencial de 0,0 a 1,3 V.

## 2.3. Citrato de sildenafil

O padrão de CS (Pharmanostra®, Itália, 99,9 %), foi dissolvido em uma solução de 0,225 mol L<sup>-1</sup> de HCl (Sigma Aldrich®) atingindo concentração final de 0,100 mol L<sup>-1</sup>. Três tampões fosfato foram preparados como eletrólitos para a análise do sal: pH

4,18 (0,200 mol/L<sup>-1</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), pH 8,00 (0,005 mol L<sup>-1</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e 0,054 mol L<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) e pH 10,6 (0,046 mol L<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> e 0,008 mol L<sup>-1</sup>).

Para verificar a região de eletroatividade do CS, foram adicionados 0,5 mL da solução padrão de CS e realizada uma varredura por voltametria cíclica (VC), na faixa de potencial entre 0,0 V e +1,3 V, condicionado a degrau de potencial em 5 mV e velocidade de 100 mV s<sup>-1</sup> nos eletrólitos de pH 4,18; 8,00 e 10,60. Seguiu a verificação da melhor resposta em três diferentes parâmetros (Tabela 2) por voltametria de onda quadrada, (VOQ), em função da adição de 0,5 mL da solução padrão de CS adicionado em 50,0 mL do tampão de pH 8,00.

Oito amostras de comprimidos de CS comerciais dos fabricantes EMS® (EMS) e Eurofarma® (EUR) foram macerados, pesados e dissolvidos em uma solução de 0,225 mol L<sup>-1</sup> HCl, atingindo concentração final de 0,100 mol L<sup>-1</sup> de CS. Foi adicionado 1,0 mL da solução de CS comercial em 50 mL do tampão de pH 8,00 e verificado por VOQ entre os potenciais 0,5 a 1,3 V com amplitude de 25 mV, 25 Hz de frequência e degrau de potencial de 5 mV a corrente gerada.

**Tabela 2.** Parâmetros selecionados para avaliar por voltametria de onda quadrada as

melhores respostas analíticas na solução de citrato de sildenafil em pH 8,00

Condições	Degrau de potencial (mV)	Amplitude (mV)	Frequência (Hz)
A	5	50	25
B	5	50	50
C	5	25	25

#### 2.4. Furosemida

A FS (Pharmanostra®, Itália, 99,8 %) foi dissolvida em uma solução alcalina (NaOH 0,01 mol L<sup>-1</sup>) atingindo concentração final de 0,010 mol L<sup>-1</sup>. Os tampões foram preparados em pH 1,20 (0,050 mol L<sup>-1</sup> KCl e 0,085 mol L<sup>-1</sup> HCl), pH 3,30 (0,007 mol L<sup>-1</sup> NaCH<sub>3</sub>COO e 0,009 mol L<sup>-1</sup> HCH<sub>3</sub>COO), pH 5,30 (0,082 mol L<sup>-1</sup> NaCH<sub>3</sub>COO e 0,018 mol L<sup>-1</sup> HCH<sub>3</sub>COO), pH 6,90 (0,061 mol L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> e 0,039 mol L<sup>-1</sup> NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) e pH 9,30 (0,012 mol L<sup>-1</sup> NaB<sub>4</sub>O<sub>7</sub> e

0,006 mol L<sup>-1</sup> NaOH).

Por VC foi analisada a faixa de potencial ativa do FS. Varrendo na faixa de potencial entre 0,0 V a 1,3 V, condicionado a degrau de potencial de 5 mV e velocidade de 100 mV s<sup>-1</sup> nos valores de pH 1,20; 3,30; 5,30; 6,90 e 9,30. Os parâmetros foram aprimorados e empregados na técnica VOQ entre os potenciais 0,5 a 1,3 V no tampão de pH 3,30. Foi variado o degrau de potencial, amplitude e frequência, Tabela 3.

**Tabela 3.** Parâmetros selecionados para avaliar melhores respostas analíticas na solução de furosemida

Condições	Degrau de potencial (mV)	Amplitude (mV)	Frequência (Hz)
a	10	100	50
b	10	100	25
c	10	50	50
d	10	50	25
e	10	25	50
f	10	25	25

A Tabela 4 expõe a composição da urina sintética a qual foi adicionado furosemida alcançando uma concentração de 3,0 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>. A urina simulada tem função de reproduzir uma amostra de interesse toxicológico, de aplicação não invasiva, a ser analisada a presença de furosemida. Todos os componentes foram devidamente pesados e

dissolvidos em água, ajustando o pH em 5,30.

Adições sequenciais de 250 µL da solução padrão de FS foi realizado na solução de urina sintética e, determinado por VOQ com frequência de 50 Hz, amplitude de 100 mV e degrau de potencial de 25 mV a corrente gerada.

**Tabela 4.** Composição da urina sintética<sup>30</sup>

Componente	Concentração (g L <sup>-1</sup> )
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	1,0
NaCl	3,0
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2,0
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,0
NH <sub>4</sub> Cl	1,0
KCl	2,0
Ureia	20,0

### 3. Resultados e Discussão

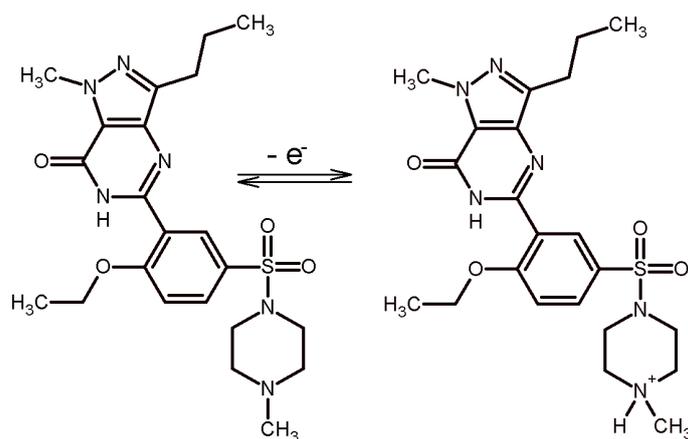
#### 3.1. Citrato de sildenafil

##### 3.1.1. Parâmetros de voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada

Por VC foi possível verificar o potencial de oxidação do CS em potenciais próximos de +1,2 V vs Ag|AgCl em um pico de pequena intensidade, o voltamograma evidenciou ainda que o sistema é irreversível, uma vez

que não apresentou pico de redução no intervalo avaliado, sob as condições aplicadas. O mecanismo de oxidação é proposto na Figura 4.

A determinação do CS foi realizada por VOQ. As condições (Tabela 2) foram variadas, apresentando diferentes respostas. O degrau de potencial de 5 mV, com amplitude de 50 mV e frequência de 50 Hz mostraram-se maiores valores de corrente, e foi assumido como condição para estudo da influência do pH.

**Figura 4.** Processo eletro-oxidativo do citrato de sildenafil<sup>34</sup>

##### 3.1.2. Influência do pH

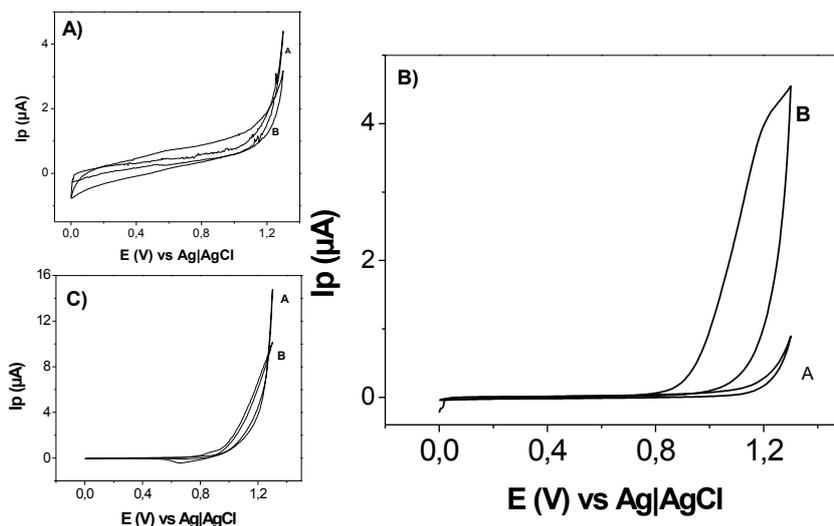
O estudo mostrou (Figura 5) que a interação ocorreu significativamente em pH

8,00 com uma independência do pico do potencial no voltamograma; viu-se que em pH 4,18 a forma protonada do analito e o ambiente muito ácido, alteraram a proporção de adsorção na superfície do eletrodo. Já

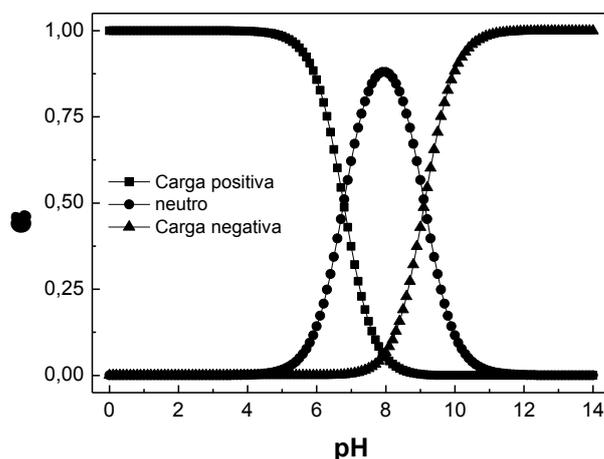
para pH 10,60, mais alcalino, a espécie sofreu hidrólise.<sup>35</sup>

Para o CS, o estudo foi realizado em situações de pH próximos aos valores em que é observado a sua forma desprotonada, em que, apresenta três espécies diferentes, em

torno de pH 4 totalmente protonado; pH 8 parcialmente desprotonada e acima do pH 9 sua forma desprotonada (Figura 6). Os testes da solução eletrolítica evidenciaram, nestes valores de pH, comportamentos diferentes.



**Figura 5.** Estudo em diferentes valores de pH, para o citrato de sildenafil: a) pH 4,18, b) pH 8,00 e c) pH 10,60; (A) ativação e (B) adição de 1,0 mL do padrão de citrato de sildenafil 0,01 mol L<sup>-1</sup>

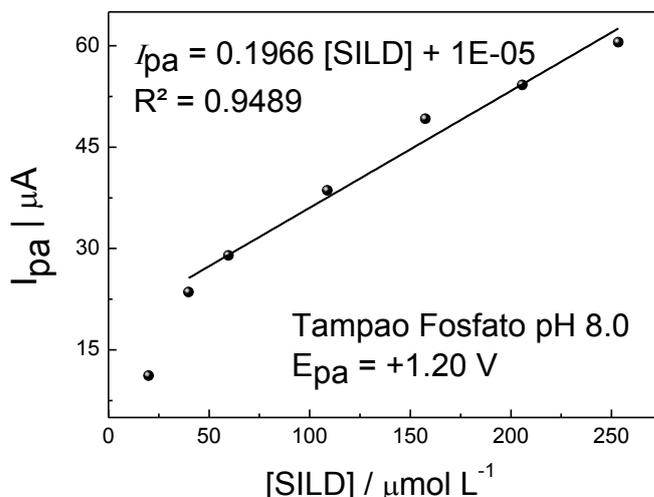


**Figura 6.** Distribuição das espécies de citrato de sildenafil em função do pH

### 3.1.3. Curva analítica

O potencial característico para o sildenafil foi observado em torno de +1,2 V, sendo

assim, a faixa de aplicação dos ensaios eletroanalíticos (+0,5 a +1,3 V) contemplam essa determinação, satisfatoriamente, como mostra a Figura 7.



**Figura 7.** Curva analítica de citrato de sildenafil em função da corrente gerada

### 3.1.4. Determinação dos limites de detecção e quantificação

Em uma técnica analítica, os limites de detecção e de quantificação são observações fundamentais para sua aplicabilidade como método quantitativo de análise. O limite de detecção (LD) torna-se fundamental para mostrar o quanto a técnica é sensível ao analito com o método empregado; contudo, devido à natureza estatística do cálculo aplicado no LD, as quantidades ou

concentrações do analito encontradas próximas aos valores do LD são consideradas imprecisas, portanto, faz-se uso do limite de quantificação (LQ), que está bem acima do valor do LD, tornando os valores obtidos muito mais confiáveis.

Os valores de LD e LQ encontrados na técnica eletroanalítica estudada foram de  $9 \mu\text{mol L}^{-1}$  e de  $27 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Na tabela 5 compara-se o valor de LD deste método proposto com os da literatura, e é visto que possui valores semelhantes.

**Tabela 5.** Comparação do LD do método eletroquímico encontrado neste trabalho para o citrato de sildenafil com outros da literatura

Eletrodo	Técnica	LD ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Referência
Eletrodo de carbono vítreo	Voltametria de pulso diferencial	10,7	36
Eletrodo impresso de carbono vítreo	Voltametria cíclica	5,5	37
Eletrodo de mercúrio gotejante	Voltametria de onda quadrada	10	38
Eletrodo composto grafite-parafina	Voltametria de onda quadrada	9	*

\* presente trabalho

### 3.1.5. Aplicação em amostras comerciais contendo citrato de sildenafil

Com as condições otimizadas para determinação eletroanalítica e o preparo das amostras descritos, os resultados dos valores encontrados para os comprimidos de CS comerciais dos fabricantes EMS<sup>®</sup> (EMS) e da

Eurofarma<sup>®</sup> (EUR), obtidos com a aplicação da equação  $I_{pa} = 0,1966 [SC] + 1 \times 10^{-5}$  ( $R^2 = 0,9489$ ), são apresentados na Tabela 6. Os valores encontrados apresentam boa recuperação e verifica-se, desta forma, que o método proposto representa uma alternativa semi-quantitativa rápida e de baixo custo operacional para a determinação do citrato de sildenafil em amostras comerciais.

**Tabela 6.** Concentrações obtidas das amostras dos fármacos de citrato de sildenafil comerciais

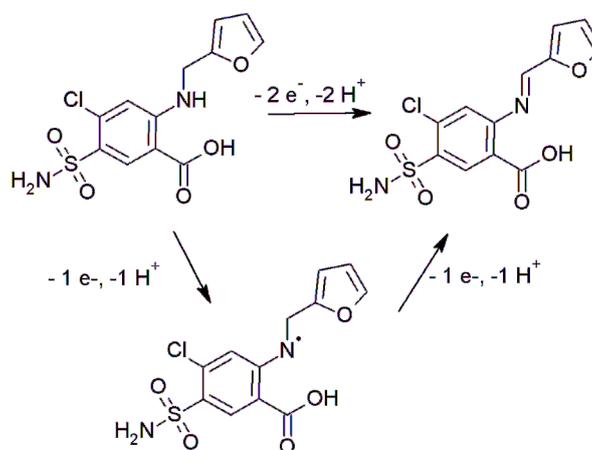
Amostras	Massa descritas pelo fabricante (mg/comprimido)	Recuperação (%)	Concentração ( $\times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ )
Citrato de sildenafil EMS (EMS) <sup>®</sup>	50	82,9	1,160
Citrato de sildenafil Eurofarma (EUR) <sup>®</sup>	50	81,2	1,080

## 3.2. Furoseimida

### 3.2.1. Parâmetros de voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada

Com base nos voltamogramas obtidos pela técnica de VC observou-se que o

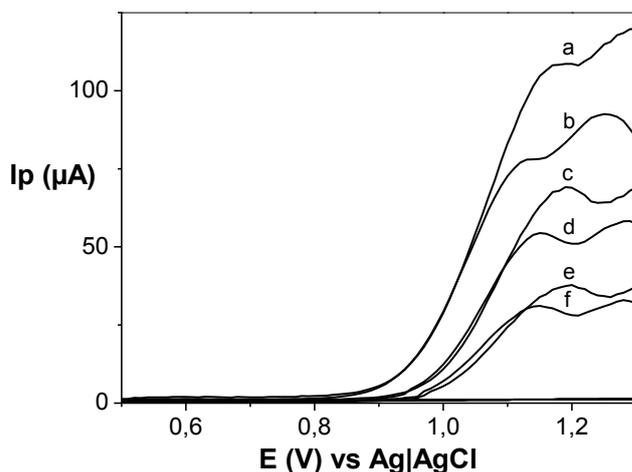
processo redox se encontrava entre +0,8 a +1,2 V, definindo-se, portanto, como intervalo de estudos, a região entre +0,5 e +1,3 V. A técnica de VC foi utilizada para avaliar os possíveis mecanismos e identificar em que região e condições o(s) sinal(is) analítico(s) deveria(m) ser monitorado(s). A Figura 8 sugere uma proposta de mecanismo de oxidação para o FS.



**Figura 8.** Proposta de um possível mecanismo de eletro-oxidação da furoseimida<sup>35</sup>

A partir daí foram realizados testes utilizando a técnica de VOQ com diferentes procedimentos eletroanalíticos, variando-se os parâmetros tais como amplitudes,

frequências e degrau de potencial. Com adição de 2,0 mL de uma solução padrão de concentração  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  em 50,0 mL de tampão de pH 3,30 como eletrólito suporte.<sup>11</sup>

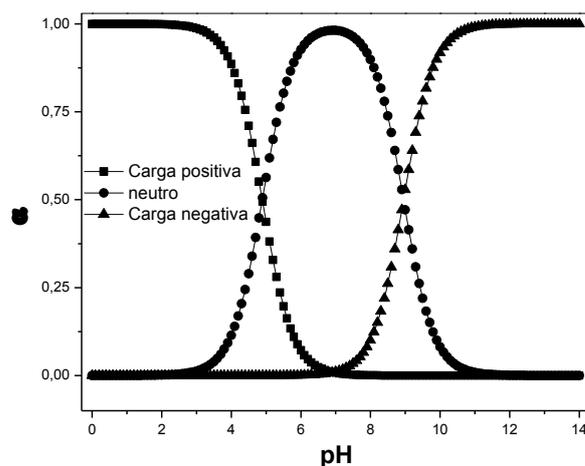


**Figura 9.** Voltamogramas de VOQ variando condições experimentais para a furosemida em solução tampão de pH 3,30

### 3.2.2. Estudo do pH

Diferentes tampões foram preparados por dissolução direta e solutos adequados em água ultrapura, sendo ajustados para pH 1,20; 3,30; 5,30; 6,90 e 9,30. Em suma, o melhor parâmetro observado para determinação de FS pela técnica de VOQ é de a amplitude de 100 mV, degrau de potencial de 25 mV e frequência de 50 Hz.

Foram descartados a utilização dos pH 1,20, 3,30, e 9,30 onde foram observados a precipitação de FS, não sendo possível sua determinação (Figura 10). O tampão 6,90 foi prontamente descartado por uma precipitação, provavelmente da ureia. Para a determinação de FS em urina sintética, foi utilizada o pH 5,30 para curvas analíticas.

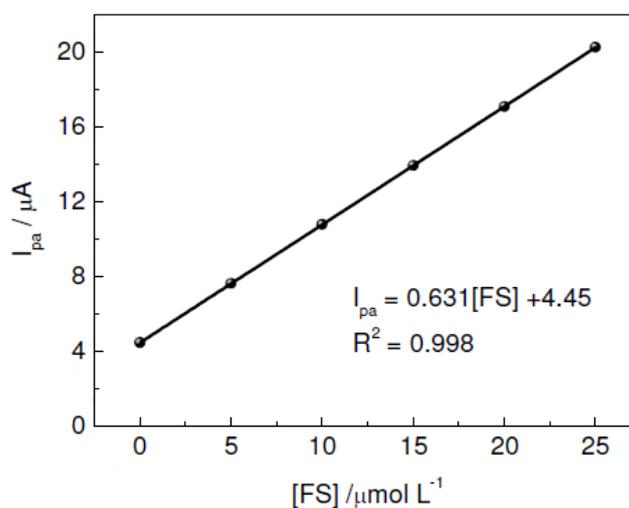


**Figura 10.** Distribuição das espécies de Furosemida em relação ao pH

### 3.2.3. Curva analítica

Foi realizado o estudo por adição de padrão de FS na urina sintética objetivando minimizar os efeitos de matriz, o pH foi ajustado em pH 5,3. Verificou-se que não houve desvio da linearidade dentro desta

faixa de concentração de FS e de corrente de pico. Estudos de velocidade de varredura são realizados para avaliar se os processos no eletrodo de trabalho foram controlados por adsorção ou difusão, Figura 11. Para soluções mais concentradas, devido à adsorção de furosemida na superfície do eletrodo, são observados desvios da linearidade.<sup>34</sup>



**Figura 11.** Curva de adição de padrão para furosemida em urina sintética

### 3.2.4. Determinação dos limites de detecção e quantificação

Dados estatísticos foram obtidos a partir de cinco curvas de calibração diferentes. O

limite de detecção e o limite de quantificação foram determinados. Na técnica de VOQ com os parâmetros utilizados, foram encontrados os valores de  $2,72 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  para o LD e  $9,06 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  para o LQ. É possível observar que todos os pontos da

adição padrão apresentam concentração reais do analito acima do LQ.

Na ingestão de um comprimido de Lasix® (40 mg de FS) é esperado que o organismo elimine em torno de 13 a 26 mg.L<sup>-1</sup>. Concentração que seria facilmente identificada pelo ECGP nas condições discutidas. Como pode ser observado na Tabela 7, o LD para a técnica estuda na determinação e quantificação para a FS

apresenta valor acima do encontrado na literatura, mas isso é compensado levando-se em conta o material aplicado e a possibilidade de preparo em diferentes áreas.

Deve-se ressaltar que, por carência de dados de literatura com relação às áreas dos eletrodos aplicados, a comparação aqui feita não representa exatamente vantagens ou desvantagens reais nem limitações quanto à aplicabilidade do eletrodo proposto.

**Tabela 7.** Comparação do LD do método eletroquímico encontrado neste trabalho para a furosemida com outros da literatura

Eletrodo	Técnica	LD ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Referência
Eletrodo composto de grafite-poliuretana	Voltametria de onda quadrada	0,96	9
Eletrodo composto de nanotubos de carbono-parafina	Voltametria de pulso diferencial	0,29	39
Carbono vítreo	Voltametria de onda quadrada	0,15	26
Eletrodo composto de grafite-parafina	Voltametria de onda quadrada	2,72	*

\* presente trabalho

### 3.2.5. Testes de adição-recuperação

Os estudos de recuperação de FS em urina sintética foram realizados para fornecer informações sobre possíveis interferentes existente na matriz das amostras. Foram feitas quatro repetições de recuperações, os valores de recuperação e concentrações estão reportados na Tabela 8.

Obteve-se uma média de recuperação de  $92,5 \pm 10,0$  %. É necessário considerar a adsorção do analito na superfície do eletrodo em razão de sua elevada hidrofobicidade, o que exige um polimento significativo e muito regular, visando limpar a superfície sem alterá-la. Para tal, o material em estudo se mostra adequado com finalidades de produção de eletrodos descartáveis de baixo custo.

**Tabela 8.** Dados das recuperações de quatro amostras de urina sintética adicionadas de FS

Amostras	Concentração de furosemida em urina sintética (mg L <sup>-1</sup> )	Recuperação (%)	Concentração (x 10 <sup>-4</sup> mol L <sup>-1</sup> )
FUR.A	0,103	103	3,23
FUR.B	0,009	100	2,81
FUR.C	0,009	86	2,41
FUR.D	0,009	81	2,28

#### 4. Conclusão

Os limites de detecção e quantificação de citrato de sildenafil e furosemida encontrados nos dois métodos, foram de 9  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e de 27  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e de 2,72  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e 9,06  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para a primeira e segunda determinação, respectivamente; ambos apresentam boa relação em comparação com outros procedimentos eletroquímicos da literatura, porém, neste trabalho, enfatiza-se o baixo custo para a fabricação do eletrodo aplicado, associada à moldabilidade e facilidade de renovação superficial. O eletrodo compósito de grafite-parafina possui as vantagens de ser relativamente barato, de fácil confecção e de limpeza da superfície. Usado como eletrodo de trabalho na técnica eletroquímica de voltametria de onda quadrada torna-se um procedimento seguro na determinação e quantificação de diferentes espécies em diferentes meios de solução.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES, CNPq, PROPPI-UFF e FAPERJ (Processos E-26/210.055/2014, E-26/111.407/2013 e E-26/102.971/2012)) pelo auxílio financeiro. A CAPES pelas bolsas de mestrado e doutorado concedidas.

#### Referências Bibliográficas

- <sup>1</sup> Melo, S. A. S.; Trovó, A. G.; Bautitz, I. R.; Nogueira R. F. P. Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados. *Química Nova* **2009**, *32*, 188. [CrossRef]
- <sup>2</sup> CPA - Chemical Pharmaceutical Association. The world APIs Market.; Roma, 2013.
- <sup>3</sup> Brasil. Farmacopeia Brasileira, volume 2 / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010.
- <sup>4</sup> Skoog, D. A. West, D. M.; Holler, F. J.; Crouch, S. R.; *Fundamentos de Química Analítica*; São Paulo, 2006.
- <sup>5</sup> Blasco, A. J.; González, M. C.; Escarpa, A. Electrochemical approach for discriminating and measuring predominant flavonoids and phenolic acids using differential pulse voltammetry: towards an electrochemical index of natural antioxidants. *Analytica Chimica Acta* **2004**, *511*, 71 [CrossRef]
- <sup>6</sup> Vo-Dinh, T.; Cullum, B. Biosensors and biochips: advances in biological and medical diagnostics. *Journal of Analytical Chemistry* **2000**, *366*, 540. [CrossRef]
- <sup>7</sup> Jarosz-Wilkolazka, A.; Ruzgas, T.; Gorton, L. Use of laccase-modified electrode for amperometric detection of plant flavonoids. *Enzyme and Microbial Technology* **2004**, *35*, 238. [CrossRef]
- <sup>8</sup> Chen, F.-N.; Zhang, Y.-X.; Zhang Z.-J. Simultaneous determination of epinephrine, noradrenaline and dopamine in human serum samples by high performance liquid chromatography with chemiluminescence detection. *Chinese Journal of Chemistry* **2007**, *25*, 942. [CrossRef]

- <sup>9</sup> Calixto, C. M. F.; Dos Santos, S. X.; Cavalheiro, E. T. G. Eletrodo compósito à base de grafite-Araldite®: aplicações didáticas - parte II. *Química Nova* **2014**, *37*, 367. [[CrossRef](#)]
- <sup>10</sup> Milton, G. W.; *The theory of composites*, Cambridge, 2004.
- <sup>11</sup> Semaan, F. S.; Pinto, E. M.; Cavalheiro, E. T. G.; Brett, C. M. A. A graphite-polyurethane composite electrode for the analysis of furosemide. *Electroanalysis* **2008**, *20*, 2287. [[CrossRef](#)]
- <sup>12</sup> Barsan, M. M.; Pinto, E. M.; Florescu, M.; Bret, C. M. A. Development and characterization of a new conducting carbon composite electrode. *Analytica Chimica Acta* **2009**, *635*, 71. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>13</sup> Sousa, R. A.; Dos-Santos, S. X.; Cavalheiro, E. T. G.; Brett, C. M. A. Graphite-polyurethane and graphite-silicone rubber composite electrodes for electrochemical characterization and determination of minoxidil. *Electroanalysis* **2013**, *25*, 706. [[CrossRef](#)]
- <sup>14</sup> dos Santos, T. A. D.; Barreto, L. M.; Ritta, A. G. S. L.; de Meneses, W. S.; Nunes R. S.; Semaan, F. S. Eletrodo compósito de baixo custo para o rápido screening voltamétrico e determinação de riboflavina (B2) e piridoxina (B6) em produtos farmacêuticos. *Revista Virtual de Química* **2013**, *5*, 548. [[CrossRef](#)]
- <sup>15</sup> Oliveira, A. C.; Dos Santos, S. X.; Cavalheiro, E. T. G. Graphite-silicone rubber composite electrode: Preparation and possibilities of analytical application. *Talanta* **2008**, *74*, 1043. [[CrossRef](#)]
- <sup>16</sup> Weinert, P.; Pezza, L.; Pezza, H. R. Determinação espectrofotométrica de citrato de sildenafil em formulações farmacêuticas. *Química Nova* **2008**, *31*, 1112. [[CrossRef](#)]
- <sup>17</sup> Ricachinevsky, P. R.; Amantea, S. L. Manejo farmacológico da hipertensão arterial pulmonar. *Jornal de Pediatria* **2006**, *82*, 153. [[CrossRef](#)]
- <sup>18</sup> Cavalheiro, E. T. G.; Brett, C. M. A.; Brett, A. M. O.; Fatibello-Filho, O. Bioelectroanalysis of pharmaceutical compounds. *Bioanalytical Reviews* **2012**, *4*, 31. [[CrossRef](#)]
- <sup>19</sup> Margotto, P. R. Uso do sildenafil na hipertensão pulmonar persistente do recém-nascido. *Comunicação em Ciências da Saúde* **2006**, *17*, 141. [[Link](#)]
- <sup>20</sup> Dupas, G.; *O mito do progresso: ou progresso como ideologia*; UNESP: São Paulo. 2006.
- <sup>21</sup> Witjes B. C.; Ahsman, M. J.; Van Der Nagel, B. C. Simultaneous assay of sildenafil and desmethylsildenafil in neonatal plasma by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Biomedical Chromatography* **2010**, *24*, 180. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>22</sup> EMEA/COMP/1572/03 – Orphan Designation of Sildenafil Citrate for the Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension and Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension, 2003.
- <sup>23</sup> Cheitlin M. D.; Hutter A. M. J. R.; Brindis R. G.; Ganz, P.; Kaul, S.; Russel, R.; Zusman, R. M. Use of sildenafil (Viagra) in patients with cardiovascular disease. *Journal of the American College of Cardiology* **1999**, *33*, 273. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>24</sup> The Merck Index: an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 13. ed. Whitehouse Sation: Merck, 2001.
- <sup>25</sup> Brunton, L. L.; *As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman*; 12a. ed., McGraw Hill/Artmed: Porto Alegre, 2012.
- <sup>26</sup> de Souza, D.; Codognoto, L.; Malagutti, A. R.; Toledo, R. A.; Pedrosa, V. A.; Oliveira, R. T. S.; Mazo, L. H.; Avaca, L. A.; Machado, S. A. S. Voltametria de onda quadrada. Segunda parte: aplicações. *Química Nova* **2004**, *27*, 790. [[CrossRef](#)]
- <sup>27</sup> Barroso, M. B.; Alonso, R. M.; Jiménez, R. M. Electrochemical determination of the loop diuretics piretanide and furosemide in pharmaceutical formulations and urine. *Analytica Chimica Acta* **1995**, *305*, 332. [[CrossRef](#)]
- <sup>28</sup> Berzas, J. J.; Rodríguez, J.; Villasenor M. J.; Contento A. M.; Cabello, M. P. Validation of a capillary gas chromatographic method for the determination of Sildenafil Citrate in its pharmaceutical formulations (Viagra).

Experimental design for evaluating the ruggedness of the method. *Chromatographia* **2002**, *55*, 601. [[CrossRef](#)]

<sup>29</sup> Refat, M. S.; Mohamed, G. G.; Fathi, A. Spectrophotometric determination of sildenafil citrate drug in tablets. Spectroscopic characterization of the solid charge transfer complexes. *Bulgarian Chemical Communications* **2013**, *45*, 250. [[Link](#)]

<sup>30</sup> Atipairin, A.; Woradechakul, C.; Sae Chee, K.; Sawatdee, S.; Sae Yoon, A. Method validation for determination of sildenafil citrate in extemporaneous oral suspension. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* **2014**, *6*, 131. [[Link](#)]

<sup>31</sup> Semaan F. S.; Cavalheiro, E .T. G. Spectrophotometric determination of furosemide based on its complexation with Fe(III) in ethanolic medium using a flow injection procedure. *Analytical Letters* **2006**, *39*, 2557. [[CrossRef](#)]

<sup>32</sup> Semaan, F. S.; Nogueira, P. A.; Cavalheiro, E. T. G. Flow-Based Fluorimetric Determination of Furosemide in Pharmaceutical Formulations and Biological Samples: Use of Micelar Media to Improve Sensitivity. *Analytical Letters* **2008**, *41*, 66. [[CrossRef](#)]

<sup>33</sup> Peratoni C. B.; Carbogim, L. G. S.; Semaan, F. S., Matos R. C., Lowinsohn D. Flow Injection Analysis of Ethambutol in Antituberculosis Drugs Using a Graphite-Paraffin Electrode as Amperometric Detector. *Electroanalysis* **2011**, *23*, 2582. [[CrossRef](#)]

<sup>34</sup> Delolo, F. G.; Rodrigues, C.; Da Silva, M. M.; Dinelli, L. R.; Delling, F. N.; Zukerman-Schpector, J.; Azevedo Batista, A. A New Electrochemical Sensor Containing a Film of Chitosan-Supported Ruthenium: Detection and Quantification of Sildenafil Citrate and Acetaminophen. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2014**, *25*, 550. [[CrossRef](#)]

<sup>35</sup> Gobry, V.; Bouchard, G.; Carrupt, P.-A.; Testa, B.; Girault, H. H. Physicochemical characterization of sildenafil: ionization, lipophilicity behavior, and ionic-partition diagram studied by two-phase titration and electrochemistry. *Helvetica Chimica Acta* **2000**, *83*, 1465. [[CrossRef](#)]

<sup>36</sup> Ozkan, S. A.; Uslu, B.; Zuman, P. Electrochemical oxidation of sildenafil citrate (Viagra) on carbon electrodes. *Analytica Chimica Acta* **2004**, *501*, 227. [[CrossRef](#)]

<sup>37</sup> Malode, S. J.; Abbar, J. C.; Shetti, N. P.; Nandibewoor, S. T. Voltammetric oxidation and determination of loop diuretic furosemide at a multi-walled carbon nanotubes paste electrode. *Electrochimica Acta* **2012**, *60*, 95. [[CrossRef](#)]

<sup>38</sup> Hegde R. N.; Swamy B. E. K.; Shetti, N. P.; Nandibewoor, S. T. Electro-oxidation and determination of gabapentin at gold electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2009**, *635*, 51. [[CrossRef](#)]

<sup>39</sup> Farghali, R. A.; Ahmed, R. A. A novel electrochemical sensor for determination of sildenafil citrate (viagra) in pure form and in biological and pharmaceutical formulations. *International Journal of Electrochemical Science* **2012**, *7*, 13008. [[Link](#)]