



Universidade Federal de Uberlândia
Instituto de Química

**APLICAÇÃO DE FOLHAS DE GRAFITE TRATADAS COM PLASMA
DE CO₂ NA DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DE MIDAZOLAM**

Ana Julia Souza Soares
Trabalho de conclusão de curso

Uberlândia
2025

Ana Julia Souza Soares

APLICAÇÃO DE FOLHAS DE GRAFITE TRATADAS COM PLASMA DE CO₂ PARA A
DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DE MIDAZOLAM

Uberlândia

2025

ATA DE DEFESA - GRADUAÇÃO

Curso de Graduação em:	Química Industrial				
Defesa de:	Trabalho de Conclusão de Curso - GQB056				
Data:	08/05/2025	Hora de início:	08:30	Hora de encerramento:	11:00
Matrícula do Discente:	12011QID027				
Nome do Discente:	Ana Julia Souza Soares				
Título do Trabalho:	Química Industrial				
A carga horária curricular foi cumprida integralmente?		(x) Sim () Não			

Reuniu-se no auditório Prof. Manuel Terrones (pós-graduação em química) no Bloco 5I da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Coordenador do Curso de Graduação em Química Industrial, assim composta: Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Munõz - Orientador; Prof. Dr. Osmando Ferreira Lopes - Titular; Dr.^a Mariana Cardoso Marra - Titular e Prof. Dr. Eduardo Mathias Richter - Suplente.

Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa, D r. Rodrigo Alejandro Abarza Munõz, apresentou a Comissão Examinadora e o(a) candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao(à) discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do(a) discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do curso.

A seguir o(a) senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

(X) Aprovado(a) Nota: 90 pontos
() Reprovado(a)

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Alejandro Abarza Munoz, Professor(a) do Magistério Superior**, em 08/05/2025, às 10:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Osmando Ferreira Lopes, Professor(a) do Magistério Superior**, em 08/05/2025, às 10:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Mariana Cardoso Marra, Usuário Externo**, em 08/05/2025, às 15:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **6316896** e o código CRC **6075BAA3**.

Sumário

1.Introdução	1
1.1 Benzodiazepínicos como drogas facilitadoras de crime	1
1.2 Midazolam	2
1.4 Eletrodos	4
1.5 Folhas de grafite.....	5
1.6 Folhas de grafite tratadas com plasma de CO ₂	6
2. Objetivo	7
3.Metodologia.....	7
3.1 Reagentes	7
3.2 Instrumentação.....	7
3.3 Preparação dos padrões.....	7
3.4 Célula eletroquímica	8
3.5 Estudo de pH.....	8
3.6 Estudo de eletrólito de suporte.....	9
3.7 Medidas eletroquímicas	9
3.8 Otimização de parâmetros.....	10
4. Resultados e discussões	10
4.1 Estudo de pH.....	10
4.2 Estudo de eletrólito	11
4.3 Otimização dos parâmetros.....	12
4.3.1 Otimização da amplitude de modulação	12
4.3.2 Otimização do incremento de potencial.....	13
4.3.3 Otimização do tempo de modulação.....	13
4.4 Voltametria de pulso diferencial do MID.....	15
4.4 Perspectivas para testes em bebidas alcoólicas contaminadas.....	19
5. Conclusão	20
6. Referências Bibliográficas	21

RESUMO

Os benzodiazepínicos (BZD) destacam-se entre as substâncias psicoativas mais associadas a crimes, sendo frequentemente classificados como Drogas Facilitadoras de Crime (DFCs). O midazolam (MID), em particular, possui elevada solubilidade em soluções aquosas devido à presença do anel imidazólico em sua estrutura química, que aumenta sua basicidade e favorece a formação de sais solúveis em água. Nesse contexto, a determinação do MID em bebidas tem se mostrado uma alternativa de grande importância em investigações criminais. Este trabalho descreve um método simples, eficaz e de baixo custo para a determinação seletiva de MID em bebidas alcoólicas. A voltametria de pulso diferencial, utilizando folhas de grafite tratadas com plasma de CO₂ (GPT) em tampão acetato (pH 4), foi empregada como técnica eletroquímica, sendo o eletrodo de trabalho e o eletrólito suporte utilizados, respectivamente. Os seguintes parâmetros de pulso diferencial foram otimizados: amplitude de modulação de 80 mV, incremento de potencial de -5 mV e tempo de modulação de 20 ms. Diferentes faixas lineares de resposta para dois picos obtidos de redução do MID foram encontradas: (pico 1: 1,0–10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e $r = 0,993$ (faixa 1); 10,0–50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e $r = 0,986$ (faixa 2); pico 2: 2,5–15,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e $r = 0,998$ (faixa 1); 15,0–50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e $r = 0,959$ (faixa 2)). Os limites de detecção obtidos para os dois picos, 1 e 2, foram de 0,204 e 0,094 mol L^{-1} .

Palavras-chaves: Midazolam; Eletrodos de grafite; Detecção eletroquímica; Plasma de CO₂; Voltametria de pulso diferencial

ABSTRACT

Benzodiazepines (BZD) stand out among the psychoactive substances most associated with crimes and are often classified as Crime Facilitating Drugs (CFDs). Midazolam (MID), in particular, has high solubility in aqueous solutions due to the presence of an imidazole ring in its chemical structure, which increases its basicity and favors the formation of water-soluble salts. In this context, the determination of MID in beverages has proven to be an important alternative in criminal investigations. This work describes a simple, effective, and low-cost method for the selective determination of MID in alcoholic beverages. Differential pulse voltammetry, using graphite sheets treated with CO₂ plasma (GPT) in acetate buffer (pH 4), was employed as the electrochemical technique, with the working electrode and supporting electrolyte used, respectively. The following differential pulse parameters were optimized: modulation amplitude of 80 mV, potential increment of -5 mV, and modulation time of 20 ms. Different linear response ranges for two MID peaks were found: (peak 1: 1.0–10.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and $r = 0.993$ (range 1); 10.0–50.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and $r = 0.986$ (range 2); peak 2: 2.5–15.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and $r = 0.998$ (range 1); 15.0–50.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and $r = 0.959$ (range 2)). The detection limits obtained for the two peaks, 1 and 2, were 0.204 and 0.094 mol L^{-1} , respectively.

Keywords: Midazolam; Graphite electrodes; Electrochemical detection; CO₂ plasma; Differential pulse voltammetry.

1.Introdução

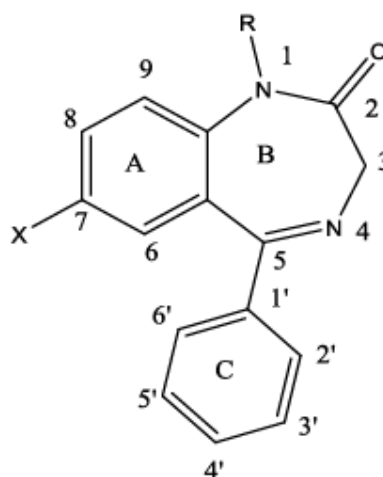
1.1 Benzodiazepínicos como drogas facilitadoras de crime

A violência sexual e os crimes de furto e roubo são práticas criminosas recorrentes, sendo que o uso de substâncias psicoativas pode facilitar sua execução. Diversos termos têm sido empregados para designar essas substâncias, tais como “date rape drugs” (drogas facilitadoras de abuso) e, mais recentemente, “drogas facilitadoras de crimes” (DFC) (UNODC, 2011; MAUBLANC et al., 2015). No Brasil, embora não exista uma classificação oficial dessas drogas, o crime em si é popularmente conhecido como “golpe da boa-noite Cinderela”. (BARRETO DA SILVA, 2016). Dentre essas substâncias, os benzodiazepínicos (BZD) se destacam como agentes frequentemente associados a esses crimes.

Os benzodiazepínicos foram descobertos na década de 1950 pelo pesquisador Leo H. Sternbach, nos Estados Unidos. (STERNBACH 1971; BERNIK, 1999).

A estrutura química geral dos benzodiazepínicos é composta por um anel benzeno (A) fusionado a um anel diazepínico de sete membros (B) e um substituinte 5-arila (C), conforme representado na Figura 1.

Figura 1. Estrutura química geral dos benzodiazepínicos



Fonte: SARMENTO, U. 2022.

Essas substâncias psicoativas são amplamente utilizadas como agentes sedativos de efeito imediato, induzindo diferentes níveis de sedação e podendo levar à diminuição do nível de consciência ou até mesmo à inconsciência. Devido aos seus efeitos sedativos e ansiolíticos,

os BZD são frequentemente utilizados para entorpecer vítimas em crimes de violência sexual e roubo, facilitando a ação criminosa dos agressores.

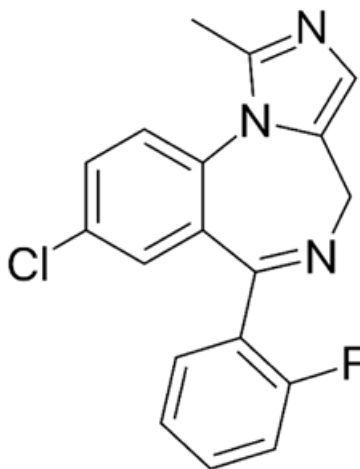
Os benzodiazepínicos (BZD) atuam nos receptores do ácido gama-aminobutírico (GABA), que são responsáveis pela mediação dos neurotransmissores inibitórios do sistema nervoso central. Essas substâncias se ligam a um local específico do sítio de ligação do ácido GABA, modulando sua ação de forma alostérica. Dessa maneira, os BZD não ativam diretamente os receptores GABA, mas potencializam os efeitos inibitórios do GABA, resultando em diversos efeitos fisiológicos, como sedação, hipnose, redução da ansiedade, relaxamento muscular, amnésia anterógrada e atividade anticonvulsivante (Brunton et al., 2012, COGO et al., 2006).

Devido a esses efeitos, os benzodiazepínicos podem tornar os indivíduos mais vulneráveis a agressões, pois reduzem sua capacidade de reação e resistência. Um estudo conduzido em sete centros de tratamento de violência sexual em Ontário, Canadá, investigou relatos de agressão sexual entre homens e mulheres. Entre as 977 vítimas que suspeitavam ter sido submetidas a agressão sexual facilitada por drogas, constatou-se que em 74,2% dos casos havia pelo menos um fármaco ativo no sistema nervoso central da vítima, evidenciando a associação dessas substâncias com crimes sexuais. (DU MONT et al., 2010).

1.2 Midazolam

O MID, estrutura representada na Figura 2 é um fármaco pertencente à classe dos benzodiazepínicos e apresenta características químicas e farmacológicas distintas em relação aos compostos clássicos dessa classe. Sua estrutura molecular inclui um anel imidazólico fusionado ao núcleo benzodiazepínico, o que confere propriedades específicas de solubilidade, metabolismo e tempo de ação.

Figura 2. Estrutura química do MID.



Fonte: ROCHA, 2019.

Uma das principais particularidades do MID em comparação com outros benzodiazepínicos, é sua elevada solubilidade em meio aquoso. A presença do anel imidazólico na estrutura da molécula aumenta sua basicidade, permitindo a formação de sais solúveis em água. Essa característica possibilita a formulação de soluções injetáveis estáveis e bem toleradas, com pH controlado, (Walser et al., 1978a), o que torna o MID um dos poucos benzodiazepínicos adequados para administração intravenosa e intramuscular sem a necessidade de solventes orgânicos

Além disso, o MID apresenta metabolismo acelerado, sendo rapidamente absorvido pelo trato gastrointestinal, atingindo sua concentração máxima após 30 minutos (SILVA et al., 2017). O grupo metil presente no anel imidazólico sofre oxidação enzimática, originando metabólitos hidroxilados, que são posteriormente conjugados e excretados. Essa rápida biotransformação confere ao MID um tempo de ação reduzido, fazendo com que haja sedação rápida e reversível, como indução anestésica, sedação em unidades de terapia intensiva e controle de crises convulsivas (Gerecke, 1983).

1.3 Métodos de detecção do midazolam

A detecção e quantificação do MID são de extrema relevância em contextos clínicos, forenses e farmacológicos, o que tem estimulado a aplicação de diversas abordagens metodológicas para sua detecção. Entre as técnicas empregadas, destacam-se a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) (KARLONAS et al., 2013), a cromatografia líquida de alta performance (HPLC) (DI CORCIA et al., 2013; PIERGIOVANNI

et al., 2018). e os métodos eletroquímicos, em particular aqueles baseados em técnicas como a voltametria de pulso diferencial (DPV) (SHAHRAKI et al., 2018).

Por sua vez, os métodos eletroquímicos, e em particular a voltametria de pulso diferencial, constituem uma alternativa atraente devido à sua rapidez, baixo custo operacional e possibilidade de miniaturização dos sistemas de análise. Esses métodos baseiam-se no registro de curvas de intensidade de corrente versus potencial, refletindo os processos redox na interface eletrodo solução, o que possibilita a identificação e quantificação do MID com boa sensibilidade e seletividade (SAMIEC et al., 2016), (SHAN et al., 2015). O avanço tecnológico na área de eletrônica tem permitido o desenvolvimento de equipamentos de alto desempenho que, combinados com tais técnicas eletroquímicas, contribuem para a obtenção de resultados robustos e confiáveis

1.4 Métodos eletroquímicos

Os eletrodos são componentes fundamentais em sistemas eletroquímicos, responsáveis por viabilizar reações de oxidação e redução ao estabelecer uma interface entre um condutor elétrico e uma solução eletrolítica. Eles podem ser compostos por diferentes materiais, como metais, semicondutores e carbono, sendo amplamente utilizados em sensores eletroquímicos, baterias e processos industriais (MCCREERY, 2008).

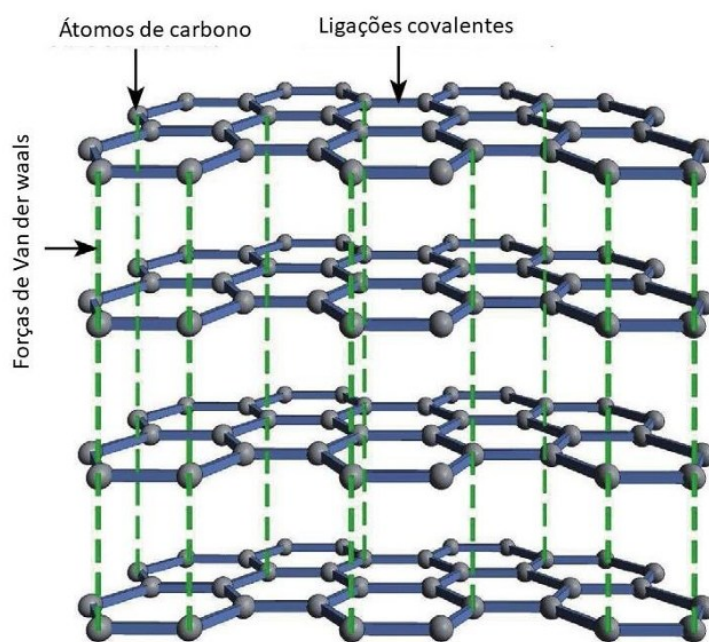
Na eletroquímica, os eletrodos podem ser classificados em três categorias principais: eletrodo de trabalho, eletrodo de referência e eletrodo auxiliar conhecido também como contra eletrodo. O eletrodo de trabalho é onde ocorrem as reações eletroquímicas de interesse, enquanto o eletrodo de referência mantém um potencial constante para comparação, e o eletrodo auxiliar fecha o circuito elétrico, permitindo a passagem de corrente sem interferir na medição

Devido às suas características intrínsecas, os materiais à base de carbono têm sido amplamente empregados nessa aplicação, destacando-se pela elevada condutividade elétrica, ampla área superficial, larga janela de potencial e baixas correntes de fundo (MCCREERY, 2008; MCCREERY; MCDERMOTT, 2012). Entre esses materiais, as folhas de grafite apresentam-se como opção particularmente vantajosa, pois, além das propriedades supracitadas, oferecem baixo custo, flexibilidade e facilidade de manuseio. Essas propriedades tornam os eletrodos de grafite uma escolha popular para aplicações analíticas, incluindo sensores descartáveis e dispositivos miniaturizados para detecção de compostos de interesse. (Silva, 2021).

1.5 Folhas de grafite

Grafite é uma estrutura de carbono disposto em camadas em que os átomos de carbono estão conectados a outros três átomos de carbono, apresentando hibridização sp^2 . A forma que estão dispostos os átomos possibilita a formação de folhas de grafite pirolisado (PGS, *Pyrolytic Graphite Sheets*), como demonstrado na Figura 3.

Figura 3. Representação da rede hexagonal de carbonos que formam a estrutura do grafite.



Fonte: Adaptado de (ADETAYO; RUNSEWE, 2019)

As folhas de grafite pirolisado são materiais artificiais compostos por camadas de grafeno empilhadas de forma paralela e altamente ordenada, o que lhes confere boa condutividade elétrica e estabilidade. São produzidas a partir da pirólise de hidrocarbonetos como metano ou propano em altas temperaturas, processo no qual ocorre a desidrogenação e polimerização de radicais livres, resultando na formação de filmes finos e puros de grafite. (GRISDALE; PFISTER; VAN ROOSBROECK, 1951)

A estrutura da formação do grafite conta com duas divisões estruturais, o plano basal e a borda. O plano basal apresenta uma superfície paralela aos planos de grafeno onde existem átomos de carbonos conjugados alinhados de forma bidimensional, agregando baixa densidade de defeitos como também regularidade atômica. (BANKS et al., 2005; VELICKÝ et al., 2019).

Essas folhas têm sido amplamente estudadas em aplicações eletroquímicas, especialmente como eletrodos de trabalho em sensores e dispositivos de armazenamento de

energia. Diferentes tratamentos térmicos, químicos, eletroquímicos ou até simples esfoliação podem aumentar a área superficial do material, melhorando seu desempenho eletrocatalítico.

Comercialmente, está disponível em diversas espessuras e resistências, sendo que materiais mais finos e de maior condutividade têm se mostrado mais eficientes para aplicações em sensores eletroquímicos. Silva e colaboradores realizaram uma análise comparativa de diferentes folhas de grafite pirolisado e identificaram que o material mais adequado para aplicação em sensores eletroquímicos foi a folha comercializada pela Panasonic, com espessura de 0,07 mm, resistência elétrica de $2,5 \Omega$ e condutividade elétrica de $55,6 \text{ S} \cdot \text{cm}^{-1}$ (SILVA et al., 2018). Dessa forma, as folhas de grafite se destacam como um material promissor pela versatilidade, boa condutividade e potencial de modificação para diferentes finalidades em eletroquímica e análise química.

1.6 Folhas de grafite tratadas com plasma de CO₂

Uma abordagem interessante para melhorar a performance eletroquímica desses eletrodos é o tratamento com plasma de CO₂. Estudos demonstraram que a exposição do grafite a um plasma frio de CO₂ resulta em um aumento significativo da área ativa e da densidade de defeitos estruturais, conforme verificado por espectroscopia Raman. (PEREIRA, 2019). O tratamento com plasma de CO₂ introduz modificações na superfície, quebrando ligações C=C e removendo espécies voláteis, o que melhora a reatividade do eletrodo.

A melhora na resposta eletroquímica também pode ser observada na redução da resistência à transferência de carga e no aumento da corrente de pico em voltametrias cíclicas. Comparado com eletrodos não tratados, os eletrodos tratados com plasma de CO₂ apresentam menores valores de resistência e uma resposta eletroquímica mais rápida, o que os torna muito promissores para sensores eletroquímicos.

Portanto, o tratamento com plasma de CO₂, representa uma alternativa eficaz e relativamente simples para melhorar a performance dos eletrodos de grafite, tornando-os mais adequados para diversas aplicações analíticas e sensoriamento eletroquímico, sendo muito útil para a análise do MID (PEREIRA, 2019).

2. Objetivo

Desenvolver um sensor eletroquímico para a detecção de MID em amostras de bebidas através do uso de eletrodos de folhas de grafite tratadas com plasma frio de CO₂.

3. Metodologia

3.1 Reagentes

Reagente	Origem
Etanol (95% v/v)	Êxodo científica (São Paulo, Brazil)
Ácido Acético (99.5% m/v)	Vetec (Rio de Janeiro, Brazil)
Ácido Bórico (99% m/m)	AppliChem Panreac (Barcelona, Spain)
Ácido fosfórico (85% m/v)	Vetec (Rio de Janeiro, Brazil)
Midazolam	XXX

3.2 Instrumentação

Para as medidas voltamétricas foi utilizado um potenciostato/galvanostato PGSTAT108N (Metrohm Autolab BV, Utrecht, The Netherlands) controlado por um computador através do software Nova. Como eletrodo de trabalho, foi utilizado o eletrodo de grafite tratada com plasma de CO₂, com área geométrica de 0,23 cm² adquirido pela empresa Panasonic (Mansfield, TX, USA). Foi utilizado um eletrodo miniaturizado de referência de Ag/AgCl/KCl_(sat.), preparado no próprio laboratório, como previamente descrito por Ramalingam *et al.* (2016) e o eletrodo de auxiliar é um fio de platina.

3.3 Preparação dos padrões

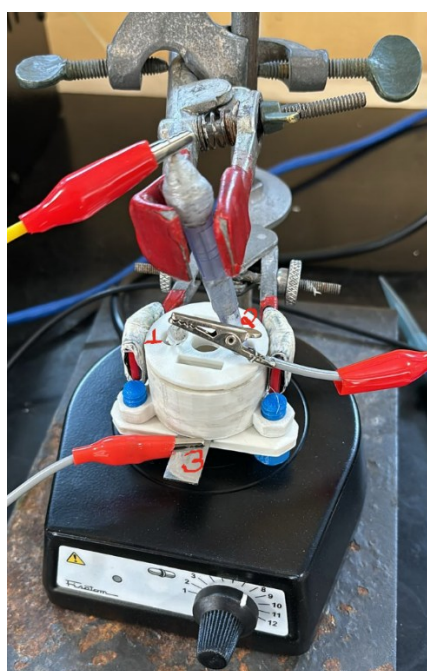
A solução do analito de interesse foi preparada utilizando 2 mL de etanol, colocada em um microtubo plástico de 2 mL bb. Em seguida, pesou-se aproximadamente 0,006515 g de MID, (padrão analítico) que foi transferido para o etanol. Após a adição do analito, a mistura foi homogeneizada manualmente e submetida a ultrassonicação por alguns minutos. A aplicação do ultrassom tem como finalidade assegurar a dissolução completa do MID, promover uma melhor dispersão das partículas e remover bolhas de ar, fatores que contribuem para a obtenção de uma solução homogênea e estável para os ensaios eletroquímicos subsequentes.

3.4 Célula eletroquímica

Para a montagem do sistema eletroquímico, folhas de grafite foram cuidadosamente cortadas em formato quadrado, com dimensões aproximadas de 1 cm, de modo a se ajustarem ao anel de borracha situado na parte inferior da célula. Em seguida, posicionou-se uma placa metálica sob o grafite, e a base da célula foi acoplada e fixada com parafusos, garantindo a integridade e estabilidade do conjunto durante as medições.

Utilizou-se uma célula com volume total de 10 mL para as análises voltamétricas. O eletrodo de trabalho foi instalado na parte inferior da célula, enquanto o eletrodo de referência, constituído por Ag|AgCl|KCl(sat.), e o contra-eletrodo no qual foi utilizado um fio de platina foram posicionados na parte superior como mostra a Figura 4. O potenciostato, operado pelo software Nova, controlou as medições eletroquímicas.

Figura 4. Montagem da célula eletroquímica; 1: contra eletrodo; 2: eletrodo de referência e 3: eletrodo de trabalho.



Fonte: Autora.

3.5 Estudo de pH

Para a determinação do pH ideal para a detecção eletroquímica, foi preparada uma solução tampão Britton-Robinson (BR), utilizando-se soluções de ácido fosfórico, ácido acético e ácido bórico, nas concentrações de 0,04 mol L⁻¹ cada. Seguidamente foram realizadas varreduras por voltametria cíclica em 1 mmol L⁻¹ de MID, utilizando o tampão BR preparado

anteriormente. O pH foi ajustado de forma incremental, variando de 2 a 10 com intervalos de 2 unidades. Essa abordagem permitiu avaliar o efeito do pH sobre a resposta eletroquímica do MID, contribuindo para a identificação das condições ótimas que maximizam a definição e intensidade do pico redox.

3.6 Estudo de eletrólito de suporte

Inicialmente, realizou-se a obtenção das curvas de branco de dois eletrólitos, tampão Britton-Robinson a 0,12 M e tampão acetato, a fim de identificar e eliminar possíveis interferências de fundo. Posteriormente, preparou-se uma solução contendo 1 mmol L⁻¹ de MID em tampão Britton-Robinson (BR) e outra com 1 mmol L⁻¹ de MID em tampão acetato. Em cada sistema, a voltametria cíclica foi realizada sob as mesmas condições experimentais.

3.7 Medidas eletroquímicas

Para avaliar o comportamento eletroquímico da molécula e do eletrodo, realizou-se a técnica de voltametria cíclica numa solução contendo 5 mL de tampão acetato pH 4 e 1 mmol L⁻¹ de MID e posteriormente realizou-se a voltametria de pulso diferencial utilizando folhas de grafite tratadas com plasma de CO₂ para a construção da curva analítica variando os valores de MID de 1 a 50 µM.

A curva analítica permitiu observar o comportamento da corrente e do potencial quando se aumenta a concentração do analito, como também apresentou parâmetros como sensibilidade, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ). O LD indica a menor concentração que pode ser distinguida com um certo nível de confiança. (SKOOG et al., 2006) como se observa a equação 1.

$$LD = 3x \frac{\text{desvio do coeficiente linear}}{\text{desvio do coeficiente angular}} \quad \text{Equação 1}$$

O LQ indica a menor concentração que pode ser determinada com confiança de exatidão e precisão aceitáveis, onde cujos valores foram definidos pela IUPAC e os desvios definidos pelo desvio do coeficiente linear das curvas de calibração (MOCÁK et al., 1997) como se observa na equação 2.

$$LQ = 10x \frac{\text{desvio do coeficiente linear}}{\text{desvio do coeficiente angular}} \quad \text{Equação 2}$$

3.8 Otimização de parâmetros

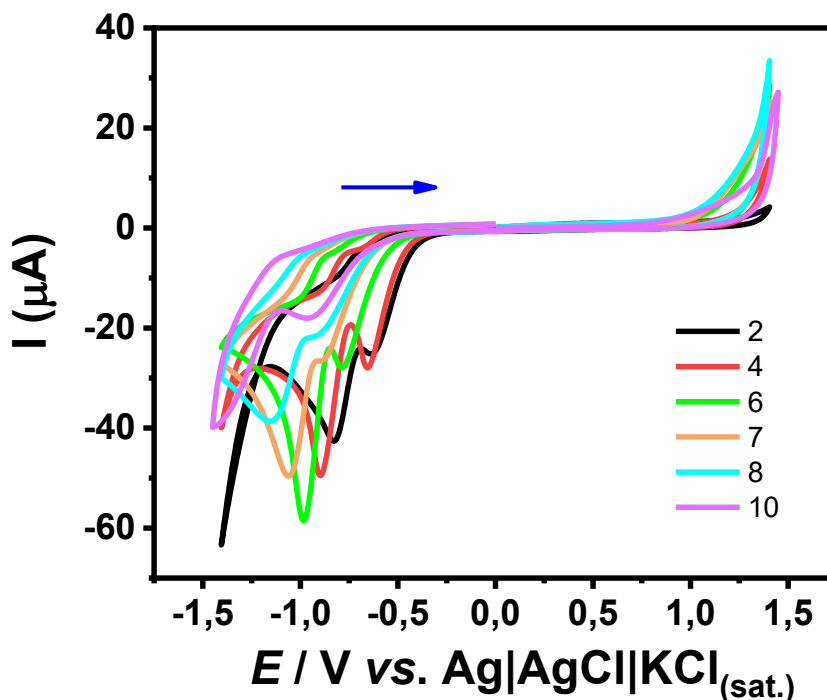
Foram realizadas otimizações dos parâmetros da técnica de voltametria de pulso diferencial (DPV) utilizando tampão acetato ajustado a pH 4 e uma solução de MID a 25 μM . Inicialmente, foram estipulados os valores para a amplitude (variando de 10 a 100 mV), o incremento de potencial (entre -1 e -8 mV) e o tempo de modulação (de 10 a 60 ms), os quais foram sistematicamente avaliados para identificar as condições que proporcionassem o melhor desempenho analítico. Após as medidas serem realizadas, foram construídas curvas analíticas a fim de observar o intervalo linear de resposta.

4. Resultados e discussões

4.1 Estudo de pH

O estudo de pH foi realizado para se observar a melhor atividade para o analito nas folhas de grafite com tratamento. O voltamograma cíclico, possibilita a observação do comportamento do MID em meio a valores de pH variados entre 2 e 10 com intervalos de 2 unidades como mostra a Figura 5.

Figura 5. Voltametria cíclica do tampão BR 0,12 mol L⁻¹ com 1 mmol L⁻¹ de MID variando o pH de 2 a 10 com intervalos de 2 unidades com velocidade de varredura 50 mV.s⁻¹ e potencial 0,0 V de início.



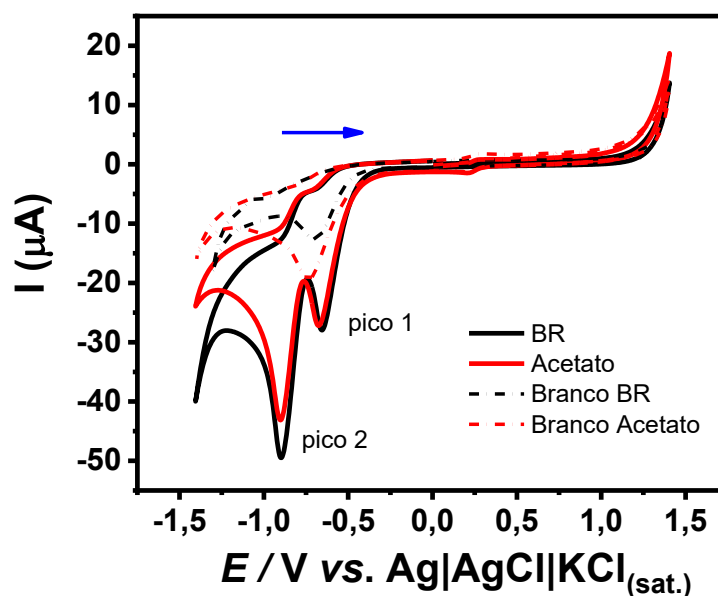
Fonte: Autora

Em pH 4, a curva de voltametria apresenta características que demonstram a viabilidade do meio ácido para a identificação do processo redox do MID. Observa-se que o pico eletroquímico ocorre em um potencial relativamente mais positivo, o que é compatível com a participação de prótons na reação de redução. Esse fato sugere que, mesmo sob condições fortemente ácidas, o MID se comporta de maneira a evidenciar a transferência de elétrons acoplada à captação de prótons. Além disso, o pico exibido possui boa definição, facilitando a identificação e a eventual quantificação do analito. Outro aspecto importante é a baixa interferência do sinal de fundo, o que confirma a eficiência do suporte eletrolítico em proporcionar um sinal limpo e bem delimitado. Dessa forma considerou-se o pH 4 a melhor opção para utilização no trabalho.

4.2 Estudo de eletrólito

Para um melhor desempenho do MID na solução, fez-se a varredura utilizando a voltametria cíclica com tampão BR e tampão acetato, ambos com 1mmol L^{-1} de MID, para avaliar o melhor eletrólito para garantir a mobilidade dos íons como mostra a Figura 6.

Figura 6. Voltamograma cíclico do MID 1mmol L^{-1} com tampão BR $0,12\text{mol L}^{-1}$ em pH 4 e tampão acetato em pH 4



Fonte: Autor

Ao analisar o gráfico obtido a partir das voltametrias cíclica realizadas em pH 4 com 1 mmol L^{-1} de MID, observa-se que as curvas correspondentes ao tampão acetato exibem picos com definição de corrente superiores aos verificados no tampão Britton-Robinson $0,12\text{ mol L}^{-1}$. Especificamente, no sistema acetato, os picos do analito são mais bem resolvidos em relação ao sinal de fundo, evidenciando uma menor interferência eletroquímica indesejada.

Portanto, considerando o melhor desempenho demonstrado pelo tampão acetato na resolução dos picos eletroquímicos e na obtenção de um sinal com melhor resolução, optou-se por utilizá-lo como eletrólito de suporte para a detecção do MID neste trabalho.

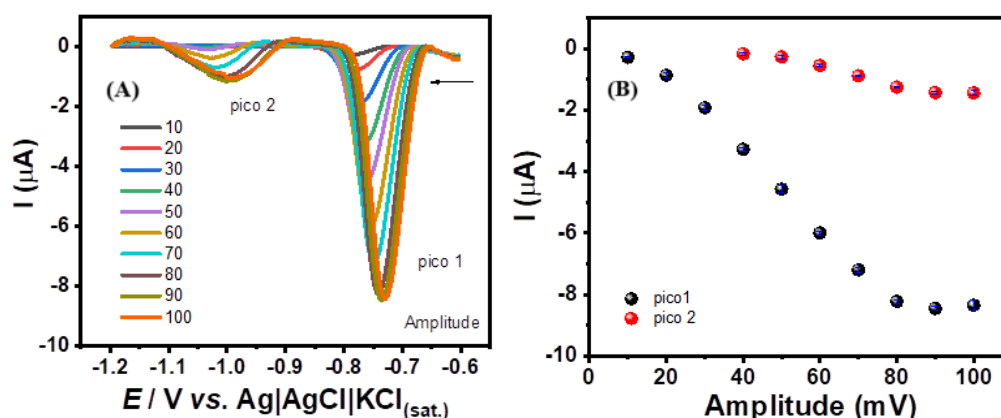
4.3 Otimização dos parâmetros

Alguns parâmetros como amplitude, tempo de modulação e incremento de potencial foram otimizados na técnica de voltametria de pulso diferencial (DPV) para obter-se um melhor desempenho analítico do MID frente as folhas de grafite tratadas com CO_2 .

4.3.1 Otimização da amplitude de modulação

Para avaliar a influência da amplitude de modulação frente ao sinal analítico do MID, variou-se a amplitude entre 10 e 100 mV com intervalo de 10 unidades, como mostra na Figura 7.

Figura 7. (A) Voltamograma de DPV com tampão acetato em pH 4 com $25\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ variando a amplitude de 10 a 100 mV. (B) Relação entre corrente de pico e amplitude de modulação



Fonte: Autora

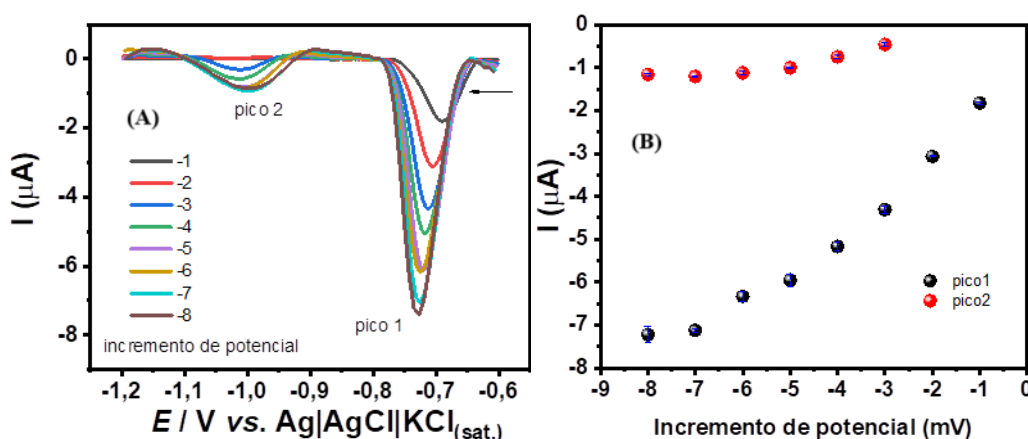
Como evidenciado na Figura 7, o aumento progressivo da amplitude de modulação resulta em uma elevação na corrente de pico do MID. Observa-se que, especificamente, a amplitude de 80 mV (conforme ilustrado na Figura 7 (b)) apresenta um comportamento linear na resposta eletroquímica, o qual se deteriora com o incremento além desse valor. Diante disso,

optou-se por utilizar 80 mV nas análises, pois essa condição propicia uma faixa maior para a detecção do analito.

4.3.2 Otimização do incremento de potencial

A medida do incremento de potencial foi analisada variando-a de -1 a -8 mV como mostra na Figura 8.

Figura 8. (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para $25 \mu\text{mol L}^{-1}$ com tampão acetato em pH 4 variando o incremento de potencial. (B) Relação entre as correntes de pico 1 e 2 e incremento de potencial.



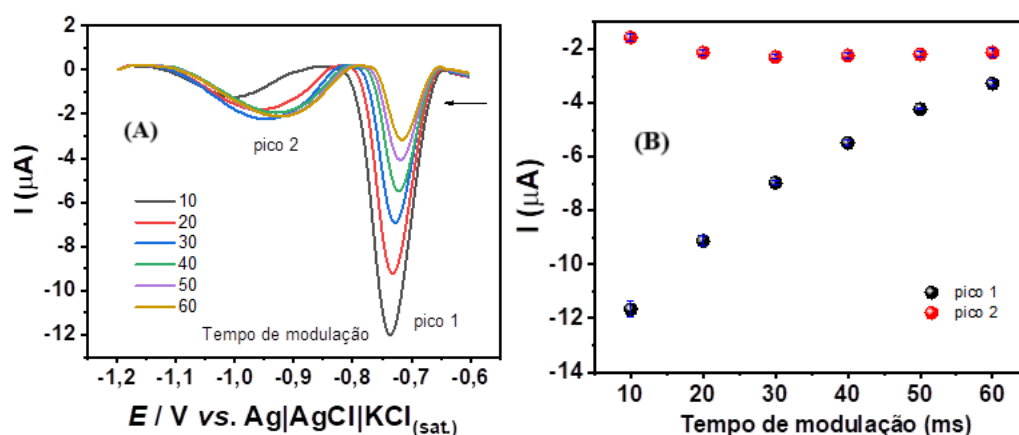
Fonte: Autora.

Conforme ilustrado na Figura 7, verificou-se uma correlação inversa entre o incremento de potencial e a magnitude da corrente de redução do MID; o incremento resultou em um aumento em módulo na intensidade do sinal. Contudo, essa melhora na sensibilidade veio acompanhada de um alargamento dos picos, o que prejudicou a capacidade de resolução dos voltamogramas e, conseqüentemente, a seletividade do método. Diante desses fatores o valor de -5 mV foi determinado como o incremento de potencial mais adequado para as análises subsequentes.

4.3.3 Otimização do tempo de modulação

Por fim, avaliou-se a influência do tempo de modulação na análise de detecção do MID, variando os valores de tempo de modulação de 10 a 60 com intervalos de 10 unidades como mostra na Figura 9.

Figura 9. (A) Voltamogramas de DPV obtidos para $25 \mu\text{mol L}^{-1}$ com tampão acetato em pH 4. (B) Relação entre corrente dos picos 1 e 2 em função do tempo de modulação.



Fonte: Autora.

Na análise apresentada na Figura 9, observa-se que o prolongamento do tempo de modulação resulta em redução da intensidade do pico de corrente, enquanto tempos mais curtos promovem aumento do ruído de fundo e alargamento dos picos. A utilização de valores elevados de tempo de modulação em DPV é indicada para minimizar a contribuição da corrente capacitiva. Com base nesses critérios, adotou-se 20 ms como parâmetro ideal para as análises subsequentes (BARD; FAULKNER, 1980; WANG, 2006). Portanto, os parâmetros foram otimizados em 80 mV para amplitude, -5 mV para incremento de potencial e 20 ms para tempo de modulação como mostra na tabela 1.

Tabela 1: Intervalos estudados e valores otimizados para a determinação de MID usando DPV.

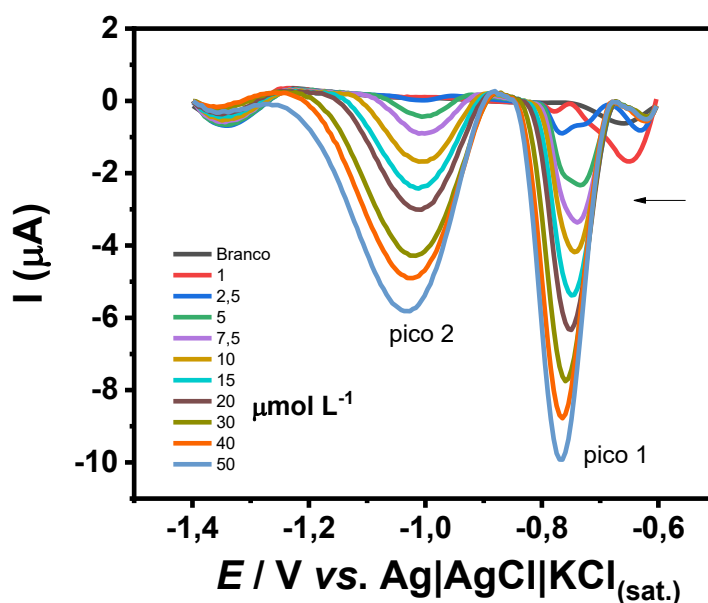
Parâmetros	Faixa estudada	Valor otimizado
Amplitude / mV	10 – 100	80
Step / mV	-1 a -8	-5
Tempo de modulação / ms	10 a 60	20

Fonte: Autora

4.4 Voltametria de pulso diferencial do MID

A curva analítica da voltametria de pulso diferencial, permitiu a percepção da interação do MID com as folhas de grafite com tratamento de plasma de CO₂, observando-se um aumento de corrente em módulo proporcional ao aumento da concentração do MID como mostra na Figura 10.

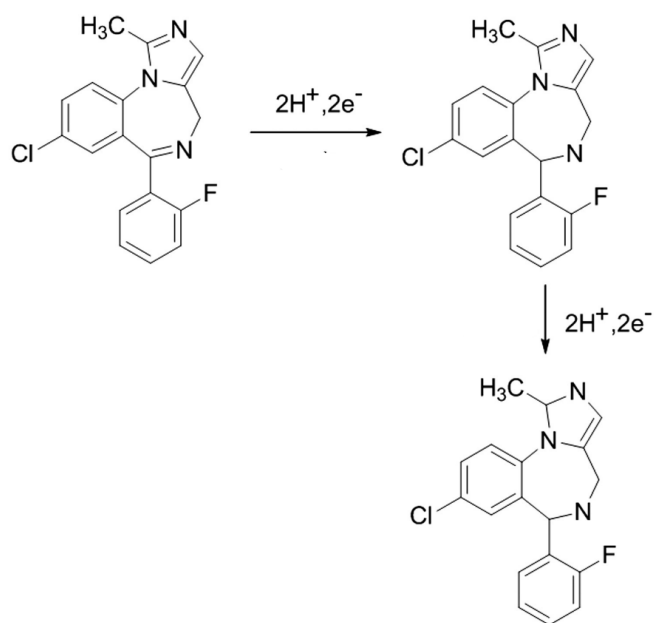
Figura 10. Curva analítica de DPV com variação da concentração de MID 1 a 50 μM em tampão acetato pH 4.



Fonte: Autora

Analisando o gráfico, é possível identificar dois picos de redução irreversíveis (rotulados como pico 1 e pico 2), em torno de -0,64V e -0,9 vs. $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{(\text{sat.})}$) envolvendo 2 prótons e 2 elétrons como representa a Figura 11.

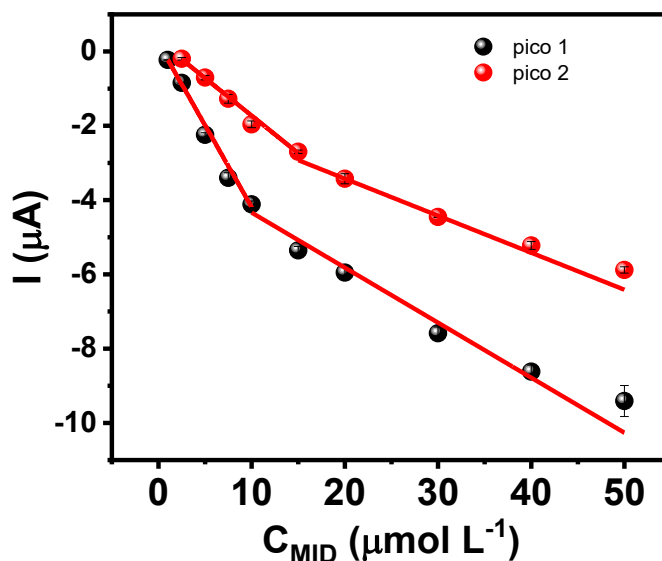
Figura 11. Reação das duas reduções da molécula de MID.



Fonte: Adaptado de JAIN; YADAV, 2012.

Além disso, percebe-se que à medida que a concentração de MID aumenta (2,5 até 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$), a intensidade de corrente em módulo também se torna mais pronunciada como mostra a Figura 12. Isso indica que o sinal eletroquímico está diretamente relacionado à quantidade de analito presente na solução.

Figura 12. Gráfico do módulo da corrente em μA em função da concentração de MID.



Fonte: Autora

Esse comportamento de aumento da corrente com o aumento da concentração sugere que, com o incremento da concentração do analito, a reação redox se torna mais eficiente, promovendo uma maior geração de corrente. Tal fenômeno é típico em sistemas eletroquímicos, nos quais a transferência de elétrons é favorecida com o aumento da concentração do analito, resultando em um incremento proporcional da corrente.

O comportamento observado no Pico 2 segue uma tendência similar à do Pico 1, com o módulo da corrente apresentando um aumento à medida que a concentração de MID cresce. Isso indica que o Pico 2 está associado a uma segunda etapa do processo redox como descrito na literatura por JAIN; YADAV, 2012 ou até mesmo a uma interação adicional do MID com o sistema eletroquímico.

As curvas de ambos os picos (Pico 1 e Pico 2) revelam um aumento no módulo da corrente com o incremento da concentração de MID, o que indica que, em concentrações mais elevadas, a reação redox é mais eficiente, resultando em uma maior geração de corrente. No entanto, à medida que a concentração do analito se eleva, a reação atinge um ponto de saturação, no qual o aumento adicional da concentração não provoca um aumento proporcional na corrente, sugerindo uma limitação no processo redox ou na transferência de elétrons.

Portanto, alguns parâmetros analíticos para o MID foram obtidos usando as folhas de grafite tratadas com CO_2 como mostra na tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros analíticos obtidos para MID usando folha de Gpt com plasma de CO₂ pela técnica DPV.

Parâmetros analíticos	Pico 1	Pico 2
Faixa linear / $\mu\text{mol L}^{-1}$	1,0–10,0 / 10,0–50,0	2,5–15,0 / 15,0–50,0
R ²	0,993/0,986	0,998/0,959
Intercepto / μA	0,218/-2,856	0,294/-0,143
Sensibilidade / $\mu\text{mol}^{-1} \text{L } \mu\text{A}$	-0,441/-0,148	-0,202/-0,010
LOD / $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,204/5,29	0,094/ -
LOQ / $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,673/17,56	0,313/ -

Fonte: Autora

Para o Pico 1, o LOD foi determinado como 0,204 $\mu\text{mol L}^{-1}$, o que indica que o método utilizado possui boa sensibilidade, sendo capaz de detectar concentrações de MID a partir dessa concentração. Esse valor reflete a alta eficácia do método na detecção de MID em concentrações baixas, tornando-o adequado para aplicações que exigem alta sensibilidade. O LOQ para o Pico 1 foi determinado como 0,673 $\mu\text{mol L}^{-1}$, o que significa que o método pode quantificar o MID de maneira precisa e confiável a partir dessa concentração. Esse valor sugere que o método é eficaz na quantificação de MID em concentrações relativamente baixas, mantendo um alto nível de precisão na análise.

Para o Pico 2, o LOD foi significativamente mais baixo, sendo 0,094 $\mu\text{mol L}^{-1}$, o que indica uma excelente sensibilidade do método, capaz de detectar concentrações de MID em níveis ainda mais baixos do que o Pico 1. Esse valor evidencia a capacidade do método para detectar o analito com alta precisão mesmo em concentrações muito reduzidas. O LOQ para o Pico 2 foi determinado como 0,313 $\mu\text{mol L}^{-1}$, o que mostra que o método também é altamente eficiente na quantificação de MID, mesmo em concentrações baixas. Esse valor sugere que o método é capaz de fornecer resultados precisos e confiáveis, permitindo a quantificação do analito com exatidão em concentrações mais baixas do que aquelas necessárias para o Pico 1.

4.4 Perspectivas para testes em bebidas alcoólicas contaminadas

O método de voltametria de pulso diferencial (DPV) aqui desenvolvido foi inicialmente otimizado em solução tampão contendo apenas 1 mmol L^{-1} de MID, tendo-se obtido limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) na faixa nanomolar, o que evidencia sua elevada sensibilidade intrínseca. Ao estender essa mesma metodologia para matrizes complexas, como bebidas alcoólicas contaminadas, espera-se que o pico redox característico do MID permaneça detectável mesmo em concentrações próximas ao LD obtido em tampão puro. Contudo, a presença de etanol, açúcares e corantes pode provocar supressão ou deslocamento do sinal de pico; (BARD, FAULKNER, 1980; WANG, 2006) por esse motivo, recomenda-se adotar o protocolo de adição padrão diretamente na amostra de bebida, bem como construir curvas analíticas em diferentes diluições de matriz, de modo a compensar efeitos de matriz e garantir a linearidade da resposta.

Em ensaios preliminares de recuperação, visando avaliar exatidão e precisão em meio real, seria razoável admitir faixas de recuperação entre 80 % e 120 % e desvio-padrão relativo (RSD) inferior a 5 %, valores que atestam a robustez do método mesmo na presença de interferentes típicos de bebidas. Além disso, o eletrodo de grafite ativado por plasma de CO_2 deverá manter estabilidade e baixo ruído de fundo durante múltiplas análises, desde que sejam preservados os parâmetros de amplitude, incremento de potencial e tempo de modulação previamente otimizados em solução tampão acetato em pH 4.

Por fim, em bebidas de tonalidade intensa (vinhos tintos, destilados envelhecidos), pode ser necessário complementar o preparo de amostra com adição padrão em fase sólida para reduzir o ruído de fundo e evitar picos interferentes próximos ao de MID. Assim, mantendo-se a confiabilidade dos parâmetros otimizados em solução tampão e empregando estratégias de calibração em matriz, o DPV apresenta-se como uma abordagem sensível, rápida e adaptável para detecção de MID em bebidas alcoólicas, com aplicação promissora em contextos forenses e de vigilância sanitária (ROCHA, 2019).

5. Conclusão

O presente trabalho demonstrou a viabilidade e eficiência da utilização de folhas de grafite tratadas com plasma de CO₂ como eletrodos de trabalho na detecção eletroquímica do midazolam.

A metodologia baseada na voltametria de pulso diferencial apresentou excelente desempenho analítico, com parâmetros otimizados de amplitude de 80 mV, incremento de potencial de -5 mV e tempo de modulação de 20 ms. Nessas condições, foram obtidos limites de detecção e quantificação na faixa micromolar, com alta linearidade.

O estudo de pH e do eletrólito de suporte mostrou que o tampão acetato em pH 4 proporcionou melhor definição dos picos eletroquímicos e maior estabilidade de resposta, sendo o meio ideal para a análise do MID. A presença de dois picos redox distintos reforça a ocorrência de etapas sucessivas de redução, compatíveis com o comportamento eletroquímico descrito na literatura. Portanto, os resultados obtidos confirmam que o eletrodo de grafite tratado com plasma de CO₂ é eficiente para detecção de MID.

6. Referências Bibliográficas

BANKS, Craig E.; COMPTON, Richard G. Edge plane pyrolytic graphite electrodes in electroanalysis: An overview. *Analytical Sciences*, v. 21, n. 11, p. 1263–1268, 2005. DOI: 10.2116/analsci.21.1263.

BERNIK, M. A. *Benzodiazepínicos: quatro décadas de experiência*. 1. ed. São Paulo: EDUSP, 1999.

BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. *As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman*. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

COGO, K. et al. Sedação consciente com benzodiazepínicos em odontologia. *Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo*, v. 18, n. 2, p. 181–188, 2006.

DI CORCIA, D.; LISI, S.; PIRRO, V.; GERACE, E.; SALOMONE, A.; VINCENTI, M. Determination of pharmaceutical and illicit drugs in oral fluid by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, v. 927, p. 133–141, 2013.

DU MONT, J.; MACDONALD, S.; ROTBARD, N.; BAINBRIDGE, D.; ASLLANI, E.; SMITH, N.; COHEN, M. M. Drug-facilitated sexual assault in Ontario, Canada: toxicological and DNA findings. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, v. 17, n. 6, p. 333–338, ago. 2010. doi:10.1016/j.jflm.2010.05.004

FRENCH, D.; STONE, J. A.; CHANG, J. S.; WU, A. H. B. Choosing the right benzodiazepine assay: impact on clinical decision making. *Laboratory Medicine*, v. 41, n. 4, p. 196–200, 2010

FERREIRA, M. M. C.; POPPI, R. J.; OLIVEIRA, R. V.; ROMÃO, W. Derivatização em química analítica: aplicações na análise de compostos orgânicos. *Química Nova*, São Paulo, v. 35, n. 10, p. 1990–1996, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/4pnd6dWqrJBc4JpggqWcWnh>. Acesso em: 2 maio 2025.

GERECKE, M. Chemical structure and properties of midazolam compared with other benzodiazepines. *British Journal of Clinical Pharmacology*, v. 16, suppl. 1, p. 11S–16S, 1983. doi:10.1111/j.1365-2125.1983.tb02266.x

JAIN, R.; YADAV, R. K. Voltammetric behavior of sedative drug midazolam at glassy carbon electrode in solubilized systems. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, v. 2, n. 2, p. 123–129, 2012. doi: 10.1016/j.jpha.2011.11.008

KARLONAS, N.; PADARAUSKAS, A.; RAMANAVICIUS, A.; RAMANAVICIENE, A. Mixed-mode SPE for a multi-residue analysis of benzodiazepines in whole blood using rapid GC with negative-ion chemical ionization MS. *Journal of Separation Science*, v. 36, n. 8, p. 1437–1445, 2013.

MCCREERY, R. L. Advanced Carbon Electrode Materials for Molecular Electrochemistry. *Chemical Reviews*, v. 108, n. 7, p. 2646–2687, jul. 2008. doi:10.1021/cr068076m

MCCREERY, R. L.; MCDERMOTT, M. T. Comment on Electrochemical Kinetics at Ordered Graphite Electrodes. *Analytical Chemistry*, v. 84, n. 5, p. 2602–2605, 2012. doi:10.1021/ac2031578

MCDERMOTT, M. T.; MCCREERY, C. A.; MCDERMOTT, R. L. Scanning Tunneling Microscopy of Carbon Surfaces: relationships between electrode kinetics, capacitance, and morphology for glassy carbon electrodes. *Analytical Chemistry*, v. 65, n. 7, p. 937–944, 1993. doi:10.1021/ac00055a017

MOCAK, J. et al. A statistical overview of standard (IUPAC and ACS) and new procedures for determining the limits of detection and quantification: application to voltammetric and stripping techniques (Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, v. 69, n. 2, p. 297–328, fev. 1997.

NASCIMENTO, J. C. *Efeitos sedativos e cardiovasculares do midazolam e do diazepam associados ou não à clonidina, em pacientes submetidos a estudos hemodinâmicos por suspeita de doença arterial coronariana* [Dissertação (Mestrado em Anestesiologia)]. Botucatu: Faculdade de Medicina de Botucatu, Programa de Pós-Graduação em Anestesiologia, Universidade Estadual Paulista – UNESP, 2007.

PEDROTTI, Jairo J.; ANGNES, Lúcio; GUTZ, Ivano G. R. Miniaturized reference electrodes with microporous polymer junctions. *Electroanalysis*, Weinheim, v. 8, n. 7, p. 673–675, July 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/elan.1140080713>. Acesso em: 5 maio 2025.

PEHRSSON, T.; BLENCOWE, K.; VIMPARRI, K.; LANGEL, C.; ENGBLOM, C.; LILLSUNDE, P. An evaluation of on-site oral fluid drug screening devices DrugWipe® 5+ and rapid STAT® using oral fluid for confirmation analysis. *Journal of Analytical Toxicology*, v. 35, n. 4, p. 211–218, 2011.

PEREIRA, J. F. S. *Melhora da performance eletroquímica de folhas de grafite pirolisado: ativação eletroquímica versus ativação por plasma* [Dissertação (Mestrado em Química)]. Uberlândia: Instituto de Química, Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Uberlândia, 2019.

PEREZ, E. R.; KNAPP, J. A.; HORN, C. K.; STILLMAN, S. L.; EVANS, J. E.; ARFSTEN, D. P. Comparison of LC–MS–MS and GC–MS analysis of benzodiazepine compounds included in the drug demand reduction urinalysis program. *Journal of Analytical Toxicology*, v. 40, n. 3, p. 201–207, 2016.

PIERGIOVANNI, M.; CAPPELLO, A.; FAMIGLINI, G.; TERMOPOLI, V.; PALMA, P. Determination of benzodiazepines in beverages using green extraction methods and capillary HPLC–UV detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 154, p. 492–500, 2018.

ROCHA, R. G. da. *Desenvolvimento de procedimento eletroanalítico para a determinação de midazolam em amostras forenses usando eletrodo de diamante dopado com boro* [Dissertação (Mestrado em Química)]. Uberlândia: Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Uberlândia, 2019.

SAMIEC, P.; NAVRÁTILOVÁ, Z.; FISCHER, J. Voltammetry of benzodiazepines on meniscus-modified silver solid amalgam electrode. *Monatshefte für Chemie – Chemical Monthly*, v. 147, n. 1, p. 127–134, 2016.

SHAN, W. C.; CUI, Y. L.; HE, X.; ZHANG, L.; LIU, J.; WANG, J. P. Production of monoclonal antibody against clonazepam for immunoassay of benzodiazepine drugs in swine tissues. *Journal of Environmental Science and Health. Part B*, v. 50, n. 1, p. 15–22, 2015.

SILVA, L. Desenvolvimento, caracterização e aplicações de folhas condutoras de grafite como eletrodos de trabalho. Repositório UFU, 2021.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. *Fundamentos de Química Analítica*. 8. ed. São Paulo: Thomson, 2006.

STERNBACH, L. H. 1,4-Benzodiazepines: chemistry and some aspects of the structure-activity relationship. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 10, p. 4–43, 1971.

TOSTES FRAZÃO, V. Midazolam: aspectos farmacológicos e seu uso em diferentes níveis de sedação. *Revista de Saúde*, v. 11, n. 1, p. 36–41, 2020. DOI:10.21727/rs.v11i1.2065. Acesso em: 10 abr. 2025.

BARRETO, A S. Determinação de cetamina e norcetamina em cabelo, como modelos de drogas básicas para a investigação toxicológica sobre o golpe “boa noite cinderela”. 151f Dissertação de Mestrado, Rio de Janeiro, Universidade Federal Fluminense, UFF, 2016.

UNODC – Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crimes - Guidelines for the Forensic analysis of drugs facilitating sexual assault and other criminal acts. 2011.

MAUBLANC, J.; DULAURENT, S.; MORICHON, J.; LACHÂTRE, G.; GAULIER, J. Identification and quantification of 35 psychotropic drugs and metabolites in hair by LC-MS/MS: application in forensic toxicology. *International Journal of Legal Medicine*. v. 129, p.259–268, 2015.

Maia, JÁ; Correia, TM; Cunha-Correia, AS. Sedação Consciente com Midazolam em Odontopediatria: Relato de Caso. *Arch Health Invest.*, 2016; 5(3).

Silva, TCG et al. Análise dos sinais vitais após administração de midazolam e cloridrato de ondansetrona em pacientes submetidos a cirurgia de catarata. *Jornal de Ciências Biomédicas e Saúde*, 2017; 2(3).

VELICKÝ, Matěj; TOTH, Peter S.; WOODS, Colin R.; NOVOSELOV, Kostya S.; DRYFE, Robert A. W. Electrochemistry of the Basal Plane versus Edge Plane of Graphite Revisited. *Journal of Physical Chemistry C*, v. 123, n. 18, p. 11677–11685, 2019. DOI: 10.1021/acs.jpcc.9b01010.

WALSER, Um. **BENJAMIN L.E.**, **FLYNN T.**, **PEDREIRO C.**,**SCHWARTZ, R.** & **FRITADEIRA R.I.** (1978a). Quinazolinase 1,4-benzodiazepínicos. Síntese e Reações deimidazo [11,5-a][1,4]benzodiazepínicos. J. Org. Chem., 43,936-944.