

1 Introdução

1.1

Contextualização do trabalho

Nos últimos 20 anos, o desenvolvimento de métodos analíticos tem sido pautado por questões relacionadas à segurança, economia e menor impacto ambiental, seguindo preceitos da denominada Química Verde. Para tal, tem-se buscado desenvolver métodos que, na sua essência, incorporam a diminuição da geração de resíduos tóxicos, a utilização de processos mais seguros, a redução de uso de solventes orgânicos e a incorporação de procedimentos que reduzam custos e riscos na transformação dos analitos de interesse em espécies químicas mais convenientes para a aplicação do método em questão. Nesse contexto, a derivatização fotoquímica é uma alternativa relevante, pois se utiliza da energia da luz para desencadear transformações químicas nos analitos de forma a produzir espécies químicas que tenham propriedades vantajosas do ponto de vista da quantificação. A radiação pode ser utilizada para substituir reagentes tóxicos e caros usualmente empregados nos procedimentos de derivatização química e permite a realização das reações em meios essencialmente aquosos, por não haver necessidade de se empregar reagentes (por exemplo, os cromogênicos) que usualmente possuem pouca solubilidade em água.

Nas derivações fotoquímicas, a fotólise, a fotociclação, a foto-oxidação ou a fotoredução são os processos mais frequentes na modificação da estrutura de uma molécula após a sua exposição à radiação. O produto formado (o fotoproduto) deve possuir propriedades químicas e físicas (ópticas, eletroquímicas, de retenção) diferentes das da substância original, acarretando melhorias do ponto de vista analítico em relação à sensibilidade e precisão da resposta analítica ou em termos de seletividade em determinações em um ambiente complexo.

Neste trabalho, a derivatização fotoquímica foi utilizada como abordagem para o desenvolvimento de métodos analíticos por espectrofotometria de fluorescência e avaliação da aplicação destes em abordagens cromatográficas

que se baseiam na medição da fluorescência dos fotoprodutos gerados. Mais especificamente visou-se a amplificação da fluorescência medida a partir de moléculas que, na sua forma original, eram pouco ou não fluorescentes e a obtenção de espécies químicas mais estáveis que a molécula original com consequente melhoria da precisão nas determinações analíticas indiretas de tetrabenazina (TBZ), amitriptilina (AMT) e vareniclina (VRN), substâncias utilizadas como princípios ativos em medicamentos. Assim, no contexto geral, visou-se com o uso da derivatização fotoquímica associar um melhor desempenho analítico com procedimentos que seguem os preceitos da Química Verde.

1.1. Objetivos

O objetivo principal deste trabalho foi desenvolver e validar métodos analíticos baseados na derivatização fotoquímica visando melhorar desempenho das medições de fluorescência na determinação de três substâncias com propriedades farmacológicas. Nesse contexto, visou-se um melhor desempenho analítico associado a procedimentos mais seguros e que minimizem o uso de solventes orgânicos e de reagentes tóxicos.

Especificamente, os objetivos foram voltados para: (i) estudar as características fluorescentes dos fotoprodutos visando aplicações analíticas; (ii) estudar e otimizar as condições experimentais que favoreceram a produção de derivados fotoquímicos fluorescentes da TBZ, AMT e VRN; (iii) elucidar os possíveis mecanismos das derivações fotoquímicas. (iv) desenvolver métodos por espectrofotometria de fluorescência molecular para determinar os fotoprodutos da TBZ, AMT e VRN em medicamentos e em fluidos biológicos; (v) avaliar a abordagem com uso da cromatografia acoplada à detecção da fluorescência e (vi) identificar e estimar a contribuição das principais fontes de incerteza associadas à medição indireta da concentração dos analitos nos métodos propostos.

1.2. Estrutura da tese

A presente Tese de doutorado se estrutura em sete capítulos. No Capítulo 2, as principais características dos analitos são apresentadas assim como suas atividades farmacológicas, aplicações farmacêuticas além de uma revisão bibliográfica dos métodos analíticos existentes na literatura para a determinação de TBZ, AMT e VRN. Nesse capítulo são feitas considerações relevantes sobre os princípios físicos e químicos das técnicas analíticas utilizadas. Finalmente, se apresenta uma revisão bibliográfica dos métodos que utilizam a derivatização fotoquímica como abordagem para indução/amplificação fluorescência em substâncias utilizadas como principio ativo em medicamentos.

O Capítulo 3 contém as informações detalhadas sobre a instrumentação, os materiais utilizados e os procedimentos de preparação de soluções e de amostras. No capítulo são também apresentados os procedimentos das análises envolvendo os métodos analíticos desenvolvidos neste trabalho e as equações detalhadas utilizadas para a estimativa da incerteza de medição.

No Capítulo 4 os resultados obtidos para a derivatização fotoquímica da TBZ são apresentados. Neste se descreve: (i) os estudos preliminares de derivatização fotoquímica e as características fluorescentes do(s) fotoproducto(s) da TBZ, (ii) a otimização das variáveis que afetam a derivatização fotoquímica da TBZ em função das características de estabilidade e magnitude da fluorescência observada, (iii) os parâmetros analíticos de mérito e incertezas associadas com a medição de fluorescência na determinação indireta da TBZ por espectrofluorimetria, (iv) a aplicabilidade do método em amostras de medicamento e em fluidos biológicos com o método espectrofluorimétrico desenvolvido e (v) proposição de um mecanismo de derivatização fotoquímica.

No Capítulo 5 os resultados obtidos para a derivatização fotoquímica da AMT são apresentados. Neste se descreve: (i) os estudos preliminares de derivatização fotoquímica em diferentes condições e as características fluorescentes do(s) fotoproducto(s) da AMT (ii) a otimização das variáveis que afetam a derivatização fotoquímica da AMT em função das características apropriadas para o método baseado na espectrofotometria de fluorescência, (iii) a otimização das variáveis que afetam a derivatização fotoquímica da AMT em função das características adequadas para uso da cromatografia com fase móvel líquida e com detecção fluorescência, (iv) os parâmetros analíticos de mérito e

incertezas associadas com a medição de fluorescência na determinação indireta da AMT por espectrofluorimetria e por cromatografia, (v) a aplicabilidade dos métodos desenvolvidos na análise de amostras de medicamento e de fluidos biológicos e (v) os estudos para elucidação do mecanismo de derivatização fotoquímica.

No Capítulo 6 os resultados obtidos para a derivatização fotoquímica da VRN são apresentados. Neste se descreve: (i) os estudos preliminares de derivatização fotoquímica em diferentes condições e as características fluorescentes do(s) fotoproducto(s) da VRN (ii) a otimização das variáveis que afetam a derivatização fotoquímica da VRN em função das características apropriadas para o método baseado na espectrofotometria de fluorescência , (iii) a otimização das variáveis que afetam a derivatização fotoquímica da VRN em função das condições para a separação dos fotoderivados utilizando cromatografia a líquido com detecção por fluorescência, (iv) os parâmetros analíticos de mérito e incertezas associadas com a medição de fluorescência na determinação indireta da VRN por espectrofluorimetria (v) a aplicabilidade do método desenvolvido na análise de medicamento, (vi) desenvolvimento de método cromatográfico para a análise de medicamento contendo VRN e (vii) proposição de um mecanismo de derivatização fotoquímica.

Finalizando, no Capítulo 7 se encontram descritas as conclusões e as recomendações deste trabalho de tese de doutorado.