



**Ilfran da Silva Nava Junior**

**Determinação seletiva de fluoroquinolonas por  
fosforimetria na temperatura ambiente em substrato de  
celulose com nitrato de tório**

**Dissertação de Mestrado**

Dissertação apresentada como requisito parcial para  
obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-  
Graduação em Química da PUC-Rio.

Orientador: Ricardo Queiroz Aucélio  
Co-Orientador: Pércio Augusto Mardini Farias

Rio de Janeiro  
fevereiro de 2007



**Ilfran da Silva Nava Junior**

**Determinação seletiva de fluoroquinolonas por fosforimetria na temperatura ambiente em substrato de celulose com nitrato de tório**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Química da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada.

**Ricardo Queiroz Aucélio**

Orientador  
Departamento de Química – Puc - Rio

**Pércio Augusto Mardini Farias**

Co-Orientador  
Departamento de Química – Puc - Rio

**Profa. Andréa Fernandes Arruda**

Instituto de Química - UFG

**Prof. José Daniel de Figueroa Villar**

Instituto de Química - IME

**Profa. Roberta Lourenço Ziulli**

Departamento de Química – Puc - Rio

**Prof. José Eugenio leal**

Coordenador (a) Setorial do Centro Técnico Científico - PUC-Rio

Rio de Janeiro, 23 de fevereiro de 2007

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, do autor e do orientador.

### **Ilfran da Silva Nava Junior**

Graduou-se em Química na Universidade Federal do Pará em 2004. Foi estagiário da Embrapa Ocidental em 2002. Foi aluno de Iniciação Científica com o auxílio de Bolsas do CNPq no período de 2002 à 2004.

### Ficha Catalográfica

Nava Junior, Ilfran da Silva

Determinação seletiva de fluoroquinolonas por fosforimetria na temperatura ambiente em substrato de celulose com nitrato de tório / Ilfran da Silva Nava Junior ; orientador: Ricardo Queiroz Aucélio ; co-orientador: Pércio Augusto Mardini Farias. – 2007.

162 f. : il. ; 30 cm

Dissertação (Mestrado em Química)–Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

Inclui bibliografia

1. Química – Teses. 2. Fosforimetria na temperatura ambiente. 3. Nitrato de tório. 4. Seletividade. 5. Fluoroquinolonas. I. Aucélio, Ricardo Queiroz. II. Farias, Pércio Augusto Mardini. III. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Química. III. Título.

CDD: 340

Não Louve o dia até que venha a noite;  
uma espada até que seja testada;  
uma donzela até que tenha casado;  
o gelo até que tenha sido transposto;  
a cerveja até que tenha sido bebida.

Provérbio Viking

## **Agradecimentos**

Ao meu orientador, Professor Ricardo Queiroz Aucélio pela oportunidade, estímulo, confiança, amizade e pela segura orientação durante a realização deste trabalho.

Ao CNPq pelo apoio na concessão da bolsa de estudos, sem a qual eu não teria conseguido concluir meu mestrado.

Aos amigos do LEEA, Yaneth, Carlos Eduardo, Wagner, Selma, Sônia, Elaine, Maria Rita, Eliane, Flávia Figueiredo, Flávia Marques, Alessandra e Roseli pelo companheirismo e apoio.

Ao meu co-Orientador Percio Augusto, pela ajuda nas horas importantes.

Aos professores do Departamento de Química da PUC – Rio, pela contribuição na minha formação.

Aos professores que participaram da banca examinadora.

Aos funcionários do Departamento de Química da PUC – Rio, em especial a Fátima e Noberto.

As três pessoas fundamentais na minha vida durante minha trajetória no mestrado, Sinai de Fátima, Letícia da Luz e Luciana Dornellas, obrigado por tudo.

A Tereza Cristina pela amizade sincera e apoio nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais Ilfran Nava e Izadora Nava, meus presentes de Deus.

Aos amigos não mencionados nominalmente, pelo apoio, amizade e incentivo durante a realização do meu mestrado.

## Resumo

Nava Junior, Ilfran da Silva; Aucelior, Ricardo Queiroz. **Determinação seletiva de fluoroquinolonas por fosforimetria na temperatura ambiente em substrato de celulose com nitrato de tório.** Rio de Janeiro, 2007. 162p. Dissertação de Mestrado - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Neste trabalho desenvolveu-se métodos analíticos baseados na fosforimetria em temperatura ambiente em substrato sólido (FTASS) para determinação seletiva de fluorquinolonas. Mais especificamente, avaliou-se a viabilidade do uso do nitrato de tório como sal de átomo pesado indutor de fosforescência visando a determinação sequencial de norfloxacin (NOR) e levofloxacin (LEV), determinação seletiva de NOR em presença de ciprofloxacino (CIP), assim como a determinação seletiva de CIP em presença de gatifloxacino (GAT) ou moxifloxacino (MOX). Realizou-se uma cuidadosa comparação entre o sinal fosforescente obtido com o uso do nitrato de tório e os obtidos pelos sais indutores tradicionalmente utilizados na FTASS. Estudou-se univariadamente o efeito da quantidade de sal indutor de átomo pesado depositado no substrato sólido, a quantidade de um surfactante modificador de superfície e a concentração hidrogeniônica da solução carreadora de analito na magnitude do sinal fosforescente. Também foram avaliadas possíveis interações entre esses fatores experimentais por meio de um planejamento fatorial  $2^3$ . Com a estratégia de análise bem definida, desenvolveram-se metodologias para a determinação de NOR, LEV e CIP em formulações farmacêuticas comerciais e simuladas e em urina enriquecida sem que se fosse aplicado procedimentos de separação do analito de interesse das outras substâncias concomitantes. Para tal, a estratégia de varredura sincronizada foi fundamental. Os parâmetros analíticos de mérito obtidos com o uso do nitrato de tório foram comparados com os obtidos com o do acetato de cádmio (átomo pesado indutor de fosforescência de fluorquinolonas já descrito na literatura). Em todos os casos estudados, a resposta analítica apresentou comportamento linear em função da massa depositada de NOR, LEV e CIP no substrato ( $R^2 > 0,99$ ), com boa repetitividade e sensibilidade (avaliada pelos limites de detecção e quantificação absolutos na ordem de ng). Tanto nas formulações farmacêuticas quanto em urina enriquecida, os resultados obtidos com o método desenvolvido com o uso do sal

de tório na determinação seqüencial de NOR/LEV e na determinação seletiva de NOR/CIP foram mais vantajosos que os obtidos com o uso do sal de cádmio. Em ambos os casos, o método desenvolvido com o uso do  $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$  mostrou-se válido desde que a proporção molar das misturas NOR/LEV e NOR/CIP não ultrapassem a condição de 1 (analito) para 5 (interferente). Para o método desenvolvido na determinação seletiva de CIP em misturas contendo GAT, o  $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$  também mostrou-se mais adequado que o acetato de cádmio,  $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ , sendo obtidos resultados satisfatórios, desde que a proporção molar CIP/GAT não ultrapassasse 1 para 2. No entanto, interferências do tipo não-espectral foram observadas na presença de quantidades maiores de GAT (até 10 vezes mais), as quais podem ser facilmente corrigidas utilizando o método de adição do analito. Já nas misturas contendo CIP/MOX, o método desenvolvido para a determinação seletiva de CIP com o uso do sal de tório foi muito favorável em proporções equimolares e em quantidades contendo duas vezes mais MOX. Em misturas contendo maiores quantidades de MOX, observou-se interferências do tipo espectral que não puderam ser contornadas por sincronização, devido seus  $\Delta\lambda_{\text{sinc}}$  muito próximos. Porém, utilizando  $\text{Cd}(\text{OAc})_2$  nas misturas contendo CIP/MOX em razões molares maiores que 1:2 se observou interferências apenas do tipo não-espectral, que podem ser corrigidas por procedimento adequado de calibração. Esse caso foi o único cujo sal de cádmio mostrou-se superior ao método desenvolvido com o uso do sal de tório.

### **Palavras-chave**

Fosforimetria na temperatura ambiente; Nitrato de tório; Seletividade; Fluoroquinolonas.

## Abstract

Nava Junior, Ilfran da Silva; Aucelior, Ricardo Queiroz. **Selective determination of fluorquinolones for cellulose surface room-temperature phosphorimetry with thorium nitrate.** Rio de Janeiro, 2007. 162p. Dissertação de Mestrado - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

In this work, analytical methods based on solid surface room-temperature phosphorimetry were developed aiming the selective determination of fluorquinolones. More spectilly, thorium nitrate was evaluated as phosphorescence inducer aiming the sequential determination of norfloxacin (NOR) and levofloxacin (LEV), selective determination of NOR in presence of ciprofloxacin (CIP), as well as the selective determination of CIP in the presence gatifloxacin (GAT) or moxifloxacin (MOX). In order to that, the phosphorescence induced by thorium nitrate was compared with the ones achieved using other traditionally employed heavy atom enhancers in solid surface room-temperature phosphorimetry (SSRTP). Univariate studies were made in order to evaluate the effect of the amounts of heavy atom salt and surface modifier present in the substrate as well as the influence of the pH of the analyte carrier solution. The interaction among these factors were also studied through experimental factorial designs ( $2^3$ ). After the definition of the analytical strategy to be employed, analytical methods were developed for the determination of NOR, LEV and CIP in simulated mixtures and analyte spiked urine without employing any procedure to physically separate the analyte from the others components of the sample. In order to do that, the use of synchronized scanning was fundamental. The analytical figures of merit achieved using thorium nitrate and cadmium acetate (heavy atom inducer already reported in the literature for fluorquinolones) were compared. In both cases, linear analytical responses in function of the amount of analyte present in the substrate were achieved ( $R^2 > 0,99$ ). Good repetitivity of results and sensibility (evaluated through the estimation of the limits of detection and quantification) were in the ng order. When testing pharmaceutical formulations and spiked urine, the use of  $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$  showed clear advantage over  $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ , allowing the sequential determination of NOR/LEV and the selective determination of NOR in the presence of CIP. The selective determination of NOR using  $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$  could be made for mixtures containing up to five times more



LEV or CIP in molar proportion. For the developed method aiming the determination of CIP in mixtures containing GAT,  $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$  was found to be more adequate heavy atom enhancer than  $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ . The method was free from interferences for samples containing two times more GAT than CIP (in molar proportion). However, interferences observed for mixtures containing higher amounts of GAT could be easily corrected by the using of the standard addition method for quantification. In mixtures containing CIP and MOX, the developed method using  $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$  was suitable for mixtures containing equimolar proportions of these two fluorquinolones. Spectral interferences were observed for higher amounts of MOX. Such interference could not be resolved due to close  $\Delta\lambda$  values characteristic for the two FQs. However, for the method using  $\text{Cd}(\text{OAc})_2$  in mixtures containing CIP/MOX in molar proportion more than 1:2 only non spectral interferences were observed, but this interferences can be corrected by the use of proper calibration strategy. This was the only situation where  $\text{Cd}(\text{OAc})_2$  demonstrate better results than  $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ .

**Keywords**

Room-temperature phosphorimetry, thorium nitrate, selectivity, fluorquinolones

# Sumário

1	Introdução	23
1.1	Modo de ação	26
1.2	Mecanismo de resistência	28
1.3	Métodos analíticos para determinação de ciprofloxacina (CIP) e norfloxacina (NOR) em técnicas diversas	30
1.4	Determinação de fluoroquinolonas por fosforimetria na temperatura ambiente em substrato sólido (SSRTP).	36
1.5	Objetivos	37
1.5.1	Objetivo geral	37
1.5.2	Objetivos específicos	37
2	Fosforimetria na temperatura ambiente em substrato sólido (SSRTP)	39
2.1	Fosforimetria na temperatura ambiente em substrato sólido	44
2.1.1	Relação entre a intensidade de emissão fosforescente e a concentração do analito no substrato sólido	45
2.1.2	A celulose como substrato sólido na SSRTP	47
2.2	Aspectos experimentais envolvidos nos métodos baseados na SSRTP com substrato de celulose	49
2.2.1	Efeito da umidade e do oxigênio	49
2.2.2	Amplificação por meio do efeito externo átomo pesado	51
2.2.3	Efeito do surfactante como modificador de superfície do papel	52
2.2.4	Influência do pH	53
2.3	Artifícios para o aumento de seletividade na SSRTP	54
2.3.1	Efeito externo seletivo do átomo pesado	54
2.3.2	Varredura de modo sincronizado	55
3	Materiais e métodos	58
3.1	Materiais e reagentes	58
3.2	Instrumentação	60
3.2.1	Espectrômetro de luminescência	60
3.2.2	Reator fotoquímico	62
3.2.3	Sistema de lavagem e secagem dos papéis	63

3.2.4 Outros equipamentos auxiliares	63
3.3 Procedimentos	64
3.3.1 Procedimentos gerais	64
3.3.2 Procedimento de preparação de substrato de celulose de baixo sinal de fundo	65
3.3.3 Procedimento geral para medições fosforescentes	66
4 Estudo das características fosforescentes de cinco fluoroquinolonas	68
4.1 Estudos preliminares de fosforescência	68
4.2 Avaliação do pH como fator seletivo	73
4.2.1 Variação do sinal fosforescente em função do pH da solução carreadora de analito na presença de nitrato de prata	74
4.2.2. Variação do sinal fosforescente em função do pH da solução carreadora de analito na presença dos nitratos de chumbo e tálio	76
4.2.3 Variação do sinal fosforescente em função do pH da solução carreadora de analito na presença de nitrato de cádmio e tório	78
4.3 Escolha de casos para desenvolvimento de métodos seletivos	81
5 Método para a determinação seletiva de NOR na presença de LEV ou CIP	82
5.1 Comentário preliminar	82
5.2 Estudos univariados para a NOR	83
5.2.1. Volume de tampão na solução carreadora	83
5.2.2 Efeito da massa de sal de átomo pesado no substrato	85
5.2.3. Efeito da massa de SDS usada como modificador de superfície	87
5.3 Estudos multivariados para a NOR	89
5.4 Otimização de condições experimentais para LEV visando a comparação de parâmetros de mérito com o método de determinação seqüencial de NOR e de LEV	98
5.5 Estudos de interferência no sinal da NOR	103
5.5.1. Estudos de interferência da CIP	104
5.5.2. Estudos de interferência da LEV e avaliação da determinação seqüencial usando varredura sincronizada	107
5.5.3. Estudos de interferência da MOX e da GAT	112
5.5.4 Estudos em urina	112
5.6 Desempenho dos métodos	117
5.6.1. Curvas analíticas e linearidade	117
5.6.2. Parâmetros de sensibilidade	124

5.6.3. Testes de recuperação (exatidão)	125
6 Método para a determinação seletiva de CIP na presença de GAT ou MOX	129
6.1 Comentário preliminar	129
6.2 Estudos univariados para a CIP	130
6.2.1. Efeito da massa de sal de átomo pesado no substrato	130
6.2.2 Efeito da massa de SDS usada como modificador de superfície	132
6.3 Estudos multivariados para a CIP	133
6.4 Estudo de interferência no sinal da CIP	139
6.4.1. Estudo da interferência da GAT	139
6.4.2. Estudo da interferência da MOX	142
6.4.3. Estudos em urina	145
6.5 Desempenho de métodos	149
6.5.1 Curvas analíticas e linearidade	149
6.5.2. Parâmetros de sensibilidade	152
6.5.3. Testes de recuperação (exatidão)	152
7 Conclusões	156
8 Referencias bibliográficas	158

## Lista de figuras

Figura 1.1 Relação entre a estrutura e a atividade das fluoroquinolonas (adaptado da ref. 20)	24
Figura 1.2. Duas das principais estratégias para construção do anel quinolônico (adaptado da ref. 12)	24
Figura 1.3. Estrutura das fluoroquinolonas estudadas	25
Figura 1.4. Mecanismo de ação das FQs (adaptado da referência 29)	27
Figura 1.5. Mecanismo de resistência as fluoroquinolonas (adaptado da ref. 39)	28
Figura 2.1. Diagrama de Jablonski modificado	40
Figura 3.1. Sistema de desoxigenação e secagem do nitrogênio.	59
Figura 3.2. Espectrômetro de luminescência Perkin-Elmer – modelo LS 55.	60
Figura 3.3. Esquema óptico do espectrômetro de luminescência Perkin Elmer – LS 55.	61
Figura 3.4. Aparato de medição em superfície sólida.	61
Figura 3.5. Reator fotoquímico.	62
Figura 3.6. (a) Sistema de lavagem (Soxhlet) e (b) secagem do substrato.	63
Figura 3.7. Aplicação das soluções no substrato sólido com o auxílio de um template e com uso de uma micropipeta.	66
Figura 3.8. Dessecador sob efeito do vácuo e protegido da luz.	67
Figura 3.9. Colocação do substrato de papel no suporte.	67
Figura 4.1. Variação da fosforescência das fluoroquinolonas em função do pH das soluções carreadoras de analito ( $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de nitrato de prata.	75
Figura 4.2. Variação da fosforescência das FQs em função do pH das soluções carreadoras de analito ( $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de nitrato de chumbo.	76
Figura 4.3. Variação da fosforescência das FQs em função do pH das soluções carreadoras de analito ( $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de nitrato de tálio.	77
Figura 4.4. Variação da fosforescência das FQs em função do pH das soluções carreadoras de analito ( $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de acetato de cádmio.	79
Figura 4.5. Variação da fosforescência das fluoroquinolonas	

em função do pH das soluções carreadoras de analito ( $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de nitrato de tório.	80
Figura 5.1. Efeito da proporção do tampão Britton-Robinson (pH 12) presente na solução carreadora de analito na fosforescência da NOR: Substrato de celulose contendo 80 ng de NOR e 1200 $\mu\text{g}$ de $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ .	84
Figura 5.2 Influência da proporção de acetona na solução carreadora (pH 12) no sinal fosforescente de 80 ng de NOR em substrato sólido contendo 600 ng de $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ .	85
Figura 5.3. Estudo do efeito da massa de $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ presente no substrato no sinal fosforescente da NOR. Solução carreadora de analito ajustada em pH 12.	86
Figura 5.4. Estudo do efeito da massa de $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ presente no substrato no sinal fosforescente da NOR. Solução carreadora de analito ajustada em pH 9.	87
Figura 5.5. Estudo do efeito da massa de SDS presente no substrato no sinal fosforescente da NOR induzida por $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ . Solução carreadora de analito ajustada em pH 12 e substrato contendo 600 $\mu\text{g}$ de sal.	88
Figura 5.6. Estudo do efeito da massa de SDS presente no substrato no sinal fosforescente da NOR induzida por $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ . Solução carreadora de analito ajustada em pH 9 e substrato contendo 666 $\mu\text{g}$ de sal.	89
Figura 5.7. Gráfico de pareto gerado com base no sinal fosforescente da NOR na presença de $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ .	92
Figura 5.8. Gráfico de Pareto gerado com base no sinal fosforescente da NOR na presença de $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ .	95
Figura 5.9 Espectro fosforescente de 80 ng de NOR em substrato de celulose contendo 666 $\mu\text{g}$ de $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ e 290 $\mu\text{g}$ de SDS. Solução carreadora em pH 9.	96
Figura 5.10 Espectro fosforescente de 80 ng de NOR em substrato de celulose contendo 480 $\mu\text{g}$ de $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ e 290 $\mu\text{g}$ de SDS. Solução carreadora em pH 9.	96
Figura 5.11. Espectro fosforescente de 90 ng de LEV em substrato de celulose contendo 666 $\mu\text{g}$ de $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ e 290 $\mu\text{g}$ de SDS. Solução carreadora em pH 9.	97
Figura 5.12. Espectro fosforescente de 90 ng de LEV em substrato de celulose contendo 480 $\mu\text{g}$ de $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ e 290 $\mu\text{g}$ de SDS.	

Solução carreadora em pH 9.	97
Figura 5.13. Estudo do efeito da massa de $\text{TINO}_3$ presente no substrato no sinal fosforescente da LEV.	
Solução carreadora de analito ajustada em pH 9.	99
Figura 5.14. Estudo do efeito da massa de SDS presente no substrato no sinal fosforescente da NOR induzida por $\text{TINO}_3$ . Solução carreadora de analito ajustada em pH 9 e substrato contendo 1332 $\mu\text{g}$ de sal.	100
Figura 5.15. Gráfico de pareto gerado com base no sinal fosforescente da LEV na presença de $\text{TINO}_3$ .	102
Figura 5.16. Reavaliação do estudo do efeito da massa de $\text{TINO}_3$ presente no substrato no sinal fosforescente da LEV. Solução carreadora de analito ajustada em pH 9 e substratos contendo 218 $\mu\text{g}$ de SDS.	102
Figura 5.17. Espectro fosforescente de 90 ng de LEV em substrato de celulose contendo 999 $\mu\text{g}$ de $\text{TINO}_3$ e 218 $\mu\text{g}$ de SDS.	
Solução carreadora em pH 9.	103
Figura 5.18. Espectro de varredura sincronizada obtidas no estudo de interferência da CIP no sinal da NOR com $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ : $\Delta\lambda = 150 \text{ nm}$ e velocidade de varredura de $600 \text{ nm min}^{-1}$ .	105
Figura 5.19. Espectro de varredura sincronizada obtidas no estudo de interferência da CIP no sinal da NOR com $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ : $\Delta\lambda = 181 \text{ nm}$ e velocidade de varredura de $600 \text{ nm min}^{-1}$ .	106
Figura 5.20. Espectro de varredura sincronizada obtidas no estudo de interferência da LEV no sinal da NOR com $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ : $\Delta\lambda = 157 \text{ nm}$ e velocidade de varredura de $600 \text{ nm min}^{-1}$ .	108
Figura 5.21. Espectro de varredura sincronizada obtidas no estudo de interferência da LEV no sinal da NOR com $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ : $\Delta\lambda = 186 \text{ nm}$ e velocidade de varredura de $600 \text{ nm min}^{-1}$ .	109
Figura 5.23. Espectro de varredura sincronizada obtidas no estudo de interferência da NOR no sinal da LEV com $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ : $\Delta\lambda = 220 \text{ nm}$ e velocidade de varredura de $600 \text{ nm min}^{-1}$ .	111
Figura 5.24. Espectro de varredura sincronizada obtidas no estudo de interferência da NOR no sinal da LEV com $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ : $\Delta\lambda = 231 \text{ nm}$ e velocidade de varredura de $600 \text{ nm min}^{-1}$ .	112
Figura 5.25. Estudos de interferência da urina na fosforescência de 80 ng de NOR utilizando $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ : $\Delta\lambda = 181 \text{ nm}$ e velocidade de varredura de $600 \text{ nm min}^{-1}$ .	114

Figura 5.26. Comparação das medições do sinal da NOR por varredura sincronizada ( $\Delta\lambda = 186$ nm) eu urina e em meio aquoso usando $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ e quantidades crescentes de LEV como FQ-interferente.	115
Figura 5.27. Comparação das medições do sinal da LEV por varredura sincronizada ( $\Delta\lambda = 231$ nm) eu urina e em meio aquoso usando $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ e quantidades crescentes de NOR como FQ-interferente.	116
Figura 5.28. (A) Curva analítica da NOR - Fosforescência induzida por $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ em função da massa de NOR depositada no substrato de celulose. (B) Gráfico de resíduos.	119
Figura 5.29. (A) Curva analítica da NOR - Fosforescência induzida por $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ em função da massa de NOR depositada no substrato de celulose. (B) Gráfico de resíduos.	120
Figura 5.30. (A) Curva analítica da LEV - Fosforescência induzida por $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ em função da massa de LEV depositada no substrato de celulose. (B) Gráfico de resíduos.	121
Figura 5.31. (A) Curva analítica da LEV - Fosforescência induzida por $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ em função da massa de LEV depositada no substrato de celulose. (B) Gráfico de resíduos.	122
Figura 5.32. (A) Curva analítica da LEV - Fosforescência induzida por $\text{TINO}_3$ em função da massa de LEV depositada no substrato de celulose (B) Gráfico de resíduos.	123
Figura 6.1. Estudo do efeito da massa de $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ presente no substrato no sinal fosforescente da CIP. Solução carreadora de analito em seu pH 6.	131
Figura 6.2. Estudo do efeito da massa de $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ presente no substrato no sinal fosforescente da CIP. Solução carreadora de analito ajustada em pH 10.	131
Figura 6.3. Estudo do efeito da massa de SDS presente no substrato no sinal fosforescente da CIP induzida por $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ . Solução carreadora de analito em pH 5,8 (natural da própria solução) e substrato contendo 600 $\mu\text{g}$ de sal.	132
Figura 6.4. Estudo do efeito da massa de SDS presente no substrato no sinal fosforescente da CIP induzida por $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ . Solução carreadora de analito ajustada em pH 10 e substrato contendo 666 $\mu\text{g}$ de sal.	133
Figura 6.5. Gráfico de Pareto gerado com base no sinal	



fosforescente da CIP na presença de $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ .	135
Figura 6.6. Gráfico de Pareto gerado com base no sinal fosforescente da CIP na presença de $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ .	137
Figura 6.7. Espectro fosforescente de 80 ng de CIP em substrato de celulose contendo 666 $\mu\text{g}$ de $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ e 216 $\mu\text{g}$ de SDS. Solução carreadora em pH 10.	138
Figura 6.8. Espectro fosforescente de 80 ng de CIP em substrato de celulose contendo 600 $\mu\text{g}$ de $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ e 360 $\mu\text{g}$ de SDS. Solução carreadora em pH 5,8 (natural).	138
Figura 6.9. Espectro de varredura sincronizada obtidas no estudo de interferência da GAT no sinal da CIP com $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ : $\Delta\lambda = 170$ nm e velocidade de varredura de $600 \text{ nm min}^{-1}$ .	140
Figura 6.10. Espectro de varredura sincronizada obtidas no estudo de interferência da GAT no sinal da CIP com $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ : $\Delta\lambda = 237$ nm e velocidade de varredura de $600 \text{ nm min}^{-1}$ .	141
Figura 6.11. Espectro de varredura sincronizada obtidas no estudo de interferência da MOX no sinal da CIP com $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ : $\Delta\lambda = 170$ nm e velocidade de varredura de $600 \text{ nm min}^{-1}$ .	143
Figura 6.12. Espectro de varredura sincronizada obtidas no estudo de interferência da MOX no sinal da CIP com $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ : $\Delta\lambda = 237$ nm e velocidade de varredura de $600 \text{ nm min}^{-1}$ .	144
Figura 6.13. Estudos de interferência da urina na fosforescência de 80 ng de CIP utilizando $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ : $\Delta\lambda = 237$ nm e velocidade de varredura de $600 \text{ nm min}^{-1}$ .	146
Figura 6.14. Comparação das medições do sinal da CIP por varredura sincronizada ( $\Delta\lambda = 237$ nm) em urina e em meio aquoso usando $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ e quantidades crescentes de GAT como fluorquinolona-interferente.	147
Figura 6.15. Comparação das medições do sinal da CIP por varredura sincronizada ( $\Delta\lambda = 237$ nm) em urina e em meio aquoso usando $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ e quantidades crescentes de MOX como fluorquinolona-interferente.	148
Figura 6.16 (A) Curva analítica da CIP - Fosforescência induzida por $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ em função da massa de CIP depositada no substrato de celulose. (B) Gráfico de resíduos.	150
Figura 6.17. (A) Curva analítica da CIP - Fosforescência induzida por	

$\text{Th}(\text{NO}_3)_4$  em função da massa de CIP depositada no substrato de celulose.

(B) Gráfico de resíduos.

151

## Lista de tabelas

Figura 1.1 Relação entre a estrutura e a atividade das fluoroquinolonas (adaptado da ref. 20)	24
Tabela 4.1. Estudo do efeito de sais de átomo pesado no sinal fosforescente de norfloxacin (NOR), ciprofloxacina (CIP), levofloxacina (LEV), gatifloxacina (GAT) e moxifloxacina (MOX) em papel filtro. <sup>a</sup>	70
Tabela 4.2. Estudo do efeito de sais de átomo pesado no sinal fosforescente de norfloxacin (NOR), ciprofloxacina (CIP), levofloxacina (LEV), gatifloxacina (GAT) e moxifloxacina (MOX) em papel filtro tratado com SDS. <sup>a</sup>	71
Tabela 4.3. Efeito do pH da solução carreadora de FQs no sinal fosforescente em papel contendo $TiNO_3$ ou $Pb(NO_3)_2$ .	78
Tabela 5.1 Fatores e níveis escolhidos para o estudo multivariado do efeito na fosforescência da NOR.	90
Tabela 5.2 Tabela de resultados obtidos com os experimentos do planejamento fatorial $2^3$ usando $Cd(OAc)_2$ como sal indutor de fosforescência da NOR.	91
Tabela 5.3 Tabela de resultados obtidos com os experimentos do planejamento fatorial $2^3$ usando $Th(NO_3)_4$ como sal indutor de fosforescência da NOR.	94
Tabela 5.4. Condições escolhidas para a determinação fosforimétrica de NOR.	95
Tabela 5.5 Tabela de resultados obtidos com os experimentos do planejamento fatorial $2^3$ usando $TiNO_3$ como sal indutor de fosforescência da LEV.	101
Tabela 5.6. Estudo de interferência <sup>a</sup> da CIP no sinal fosforescente da NOR usando $Cd(OAc)_2$ .	105
Tabela 5.7. Estudo de interferência <sup>a</sup> da CIP no sinal fosforescente da NOR usando $Th(NO_3)_4$ .	106
Tabela 5.8. Valores de $\Delta\lambda$ selecionado no modo de varredura sincronizada para NOR e para LEV.	107
Tabela 5.9. Estudo de interferência <sup>a</sup> da LEV no sinal fosforescente da NOR usando $Cd(OAc)_2$ .	108

Tabela 5.10. Estudo de interferência <sup>a</sup> da LEV no sinal fosforescente da NOR usando $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ .	109
Tabela 5.11. Estudo de interferência <sup>a</sup> da NOR no sinal fosforescente da LEV usando $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ .	111
Tabela 5.12. Teste de interferência da matriz urina no sinal fosforescente da NOR.	113
Tabela 5.13. Parâmetros das curvas analíticas	118
Tabela 5.14. Estudos de precisão	122
Tabela 5.15. Parâmetros de sensibilidade	124
Tabela 5.16. Recuperação nas determinações em amostras de formulações farmacêuticas contendo NOR ou LEV usando SS RTP (média de três determinações).	125
Tabela 5.17. Recuperação nas determinações em amostras de formulações farmacêuticas simuladas contendo NOR ou LEV como princípio ativo usando SS RTP (média de três determinações).	126
Tabela 5.18. Recuperação nas determinações em urina enriquecida contendo NOR ou LEV como princípio ativo usando SS RTP	127
Tabela 6.1 Fatores e níveis escolhidos para o estudo univariados do efeito na fosforescência da CIP.	134
Tabela 6.2 Tabela de resultados obtidos com os experimentos do planejamento fatorial $2^3$ usando $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ como sal indutor de fosforescência da NOR.	134
Tabela 6.3 Tabela de resultados obtidos com os experimentos do planejamento fatorial $2^3$ usando $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ como sal indutor de fosforescência da CIP.	136
Tabela 6.4. Condições escolhidas para a determinação fosforimétrica de CIP.	137
Tabela 6.5. Estudo de interferência <sup>a</sup> da GAT no sinal fosforescente da CIP usando $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ .	140
Tabela 6.6. Estudo de interferência <sup>a</sup> da GAT no sinal fosforescente da CIP usando $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ .	141
Tabela 6.7. Estudo de interferência <sup>a</sup> da MOX no sinal fosforescente da CIP usando $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ .	142
Tabela 6.8. Estudo de interferência <sup>a</sup> da MOX no sinal fosforescente da CIP usando $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ .	144
Tabela 6.9. Teste de interferência da matriz urina no sinal	

fosforescente da CIP.	145
Tabela 6.10. Parâmetros das curvas analíticas	150
Tabela 6.11. Estudos de precisão.	152
Tabela 6.12. Parâmetros de sensibilidade	152
Tabela 6.13. Recuperação nas determinações em amostras de formulações farmacêuticas contendo CIP usando SSRTP	153
Tabela 6.14. Recuperação nas determinações em amostras de formulações farmacêuticas simuladas contendo CIP como princípio ativo usando SSRTP.	153
Tabela 6.15. Recuperação nas determinações em urina enriquecida contendo NOR ou LEV como princípio ativo usando SSRTP	154

## Lista de Abreviaturas

CI – Cruzamento interno

CIS – Cruzamento intersistemas

CZE – Capillary Zone Electrophoresis (Eletroforese de zona capilar)

FQs – Fluorquinolonas

CZE-ITP - Capillary Zone Electrophoresis/capillary isotachophoresis  
(Eletroforese de zona capilar-capilar isotacoforese)

$\lambda_{em}$  – Comprimento de onda máximo de emissão, em nm (nanômetros)

$\lambda_{exc}$  – Comprimento de onda máximo de excitação, em nm (nanômetros)

LEV – Levofloxacin

LD – Limite de detecção

LDA – Limite de detecção absoluto

LQ – Limite de quantificação

LQA Limite de detecção absoluto

GAT – Gatifloxacin

HPLC – High Performance Liquid Chromatography (Cromatografia em fase  
líquida de alta eficiência)

LOM – Lomefloxacin

NOR – Norfloxacin

FWHM - “Full Width at Half Maximum” (largura da banda spectral medida na  
metade de sua intensidade)

CIP – Ciprofloxacin

MOX – moxifloxacin

RV – Relaxamento vibracional

SDS – Dodecil sulfato de sódio

$S_0$  – Estado fundamental

$S_n$  – Estado singleto no nível “n”

FTASS – Fosforimetria na temperatura ambiente suportada em substrato sólido

$T_n$  – Estado tripleto no nível “n”

SSRTP – Solid Surface Room-temperature phosphorimetry

USP – United States Pharmacopoeia