

## Contextualização

Os alcaloides  $\beta$ -carbolinas são substâncias que provocam vários efeitos biológicos, que podem ser deletérios ou benéficos, dependendo da quantidade consumida, e podem ser comumente encontrados, principalmente, em alimentos, chás e fitoterápicos. Devido à importância de se determinar seletivamente esses alcaloides nessas matrizes, escolheu-se desenvolver nessa presente tese de doutorado um método de determinação seletiva dessas substâncias por cromatografia líquida. Além da classe das  $\beta$ -carbolinas, a galantamina também foi escolhida por se tratar de um importante princípio ativo de um medicamento utilizado no controle da doença de Alzheimer. Na literatura há um número considerável de métodos de determinação da galantamina, porém poucos métodos foram propostos para a determinação seletiva da galantamina e seus principais metabólitos. Esse fato motivou o desenvolvimento de um método de separação para essas substâncias em cromatografia líquida.

Na década de 1980 foi quando ocorreram os estudos fundamentais para o desenvolvimento da cromatografia líquida micelar (MLC). Muitos trabalhos científicos desse período são referências que continuam importantes para o desenvolvimento de métodos de separação eficazes que utilizam essa técnica. Essa abordagem cromatográfica vem ganhando espaço como alternativa para cromatografia líquida convencional, por trazer vantagens em função do uso de fase móvel essencialmente aquosa, que tem menor custo, é menos tóxica, mais segura e biodegradável. Essas características vêm de encontro aos preceitos da Química Verde, que engloba várias estratégias para minimizar ou eliminar o uso de substâncias tóxicas e a geração de resíduos, além da busca por segurança, economia e menor impacto ambiental. A fase móvel micelar também permite que as amostras mais complexas sejam diretamente introduzidas no sistema cromatográfico ou introduzidas após o mínimo de etapas de preparação.

Assim, no contexto geral, visou-se aliar as vantagens atribuídas à técnica de MLC com o propósito de desenvolver métodos seletivos para determinação das  $\beta$ -carbolinas em matriz de chás, fitoterápicos e urina e, para a determinação da galantamina e seus metabólitos em urina de ratos. Além disso, os alcaloides  $\beta$ -

carbolinas, galantamina e seus metabólitos, foram escolhidos por serem substâncias básicas naturalmente fluorescentes possibilitando maior interação com o surfactante aniônico SDS.

## 1.1

### Objetivos

O objetivo principal desse trabalho foi desenvolver métodos analíticos de separação baseados na técnica de cromatografia líquida micelar visando a determinação seletiva de alcaloides da classe das  $\beta$ -carbolinas em amostras de *Passiflora* e a determinação seletiva de galantamina e seus principais metabólitos em amostras de urina.

Especificamente, foram realizados: (i) estudos e otimização das condições cromatográficas experimentais que favorecessem a separação efetiva de seis alcaloides  $\beta$ -carbolinas e a separação da galantamina e seus quatro metabólitos principais; (ii) estudos para a obtenção dos parâmetros analíticos e das características metrológicas a fim de identificar e mensurar a contribuição das principais fontes de incerteza de medição da concentração dos analitos nos métodos propostos; (iii) estudos de interferência mútua na quantificação dos analitos considerando os pares críticos na separação cromatográfica; (iv) aplicação dos métodos em amostras reais.

## 1.2

### Estrutura da Tese

A presente Tese de doutorado foi estruturada em seis capítulos. No Capítulo 2, as principais características dos analitos são apresentadas assim como suas atividades biológicas e aplicações farmacêuticas, além de uma revisão bibliográfica dos métodos analíticos existentes na literatura para a determinação dos seis alcaloides  $\beta$ -carbolinas, galantamina e seus metabólitos. Nesse capítulo, considerações relevantes sobre os princípios da técnica de cromatografia líquida

micelar são feitas, além da abordagem sobre a validação de métodos e estimação da incerteza de medição.

O Capítulo 3 contém as informações detalhadas sobre a instrumentação, os materiais utilizados e os procedimentos de preparação de soluções e amostras. Neste capítulo são também apresentados os procedimentos das análises envolvendo os métodos analíticos desenvolvidos neste trabalho.

No Capítulo 4 são apresentados os resultados obtidos para a determinação seletiva dos alcaloides  $\beta$ -carbolinas (HOL, HLOL, HAE, NOR, HIE e HLINE). Neste capítulo foram descritos: (i) a determinação dos valores encontrados de  $pK_a$  ( $S_0$ ) das  $\beta$ -carbolinas HAE, NOR e HIE em meio aquoso e em meio aquoso organizado contendo o surfactante aniônico dodecilsulfato de sódio (SDS); (ii) o desenvolvimento de método cromatográfico por MLC com detecção fluorimétrica para separação e determinação de seis  $\beta$ -carbolinas, buscando aliar a melhor resolução dos picos com o menor tempo de corrida e menor gasto de solvente orgânico; (iii) a validação do método proposto à luz das melhores práticas metrológicas, incluindo o cálculo de incertezas de medição; (iv) a avaliação da estabilidade das soluções dos padrões dos alcaloides em meio micelar; (v) a aplicabilidade do método em amostras reais de medicamentos fitoterápicos, tinturas de *Passiflora incarnata*, chá de *Passiflora alata* e urina.

No Capítulo 5 são apresentados os resultados obtidos para a determinação seletiva de galantamina (GAL) e seus principais metabólitos: *N*-óxido galantamina (NOx), *O*-desmetil galantamina (OD), *N*-desmetil galantamina (ND) e epigalantamina (EP). Neste capítulo foram descritos: (i) o desenvolvimento de método por MLC e detecção fluorimétrica de separação da galantamina e seus quatro metabólitos principais, buscando aliar a melhor resolução dos picos com o menor tempo de corrida; (ii) a validação do método proposto, seguindo as orientações dos órgãos competentes, incluindo o cálculo de incerteza de medição; (iii) a aplicabilidade do método proposto em amostras de urina de ratos após a administração de medicamento, contendo hidrobrometo de galantamina; (iv) os estudos de enriquecimento de sinal fluorescente da galantamina em MLC e em meio rico de micelas de SDS em regime de fluxo.

Finalizando, no Capítulo 6 se encontram descritas as conclusões deste trabalho de tese de doutorado e, ao término deste documento, são apresentadas as Referências bibliográficas.