

5

Conclusão e trabalhos futuros

Neste trabalho foram desenvolvidos e validados os métodos analíticos baseados na SSRTP para determinação do princípio ativo do anticâncer injetável de CPT-11 e traços da contaminante CPT em formulações farmacêuticas.

De acordo com os estudos preliminares o nitrato de chumbo foi indicado como sal indutor de fosforescência para determinação do princípio ativo de CPT-11 em substratos de celulose tratados com SDS. Já o nitrato de tálio, usando solução carreadora de analito em meio básico, foi indicado para determinação de traços de CPT em formulações farmacêuticas.

Para a CPT-11, a otimização foi realizada apenas pela abordagem univariada, já que, nesse caso, o objetivo foi o de quantificar CPT-11 em formulações farmacêuticas anticâncer nas quais este analito estaria presente como componente principal (ordem de mg mL^{-1}) e não como contaminante. Para a CPT, o estudo univariado mostrou ser de extrema importância antes da aplicação do planejamento fatorial para que se pudesse conhecer o comportamento da fosforescência da CPT. A otimização multivariada foi muito útil na avaliação dos principais efeitos e possibilitou a identificação de interações entre esses fatores responsáveis pelo sinal fosforescente da CPT.

O uso da varredura da derivada de 2ª ordem do espectro de excitação foi fundamental para possibilitar a determinação seletiva da CPT em misturas contendo até 40 vezes mais TPT, em concentração, usando para tal a determinação no ponto isodiferencial (367 nm). Para misturas contendo CPT-11, esse desempenho foi mais limitado, pois a CPT só foi determinada seletivamente em misturas contendo até 5 vezes mais CPT-11 com o uso da varredura normal em 570 nm.

O estudo com fluidos biológicos foi meramente especulativo, a fim de mostrar o potencial da SSRTP em fluidos. No caso da CPT-11, não houve preocupação em realizar estudos em fluidos biológicos, porque a matriz de interesse para este princípio ativo era medicamentos.

A validação dos métodos por SSRTP, incluindo estimativa da incerteza da medição fosforescente, foi muito importante para avaliar a qualidade dos resultados das medições. Os limites de detecção e quantificação absolutos

ficaram na ordem do ng. O estudo do substrato de nylon mostrou-se de grande importância para a melhora na detectabilidade do método, possibilitando determinar e quantificar o contaminante em teores mais baixos que os encontrados nos substratos de celulose. O uso do nylon promove grandes vantagens operacionais como: (i) o baixo tempo gasto na secagem dos substratos (40 min ao invés de 120 min requeridos para o substrato de celulose) e (ii) o tratamento para a redução do sinal de fundo do substrato não é necessário.

No estudo das incertezas, a componente que mais contribuiu no valor da incerteza combinada foi a repetitividade, que está relacionada com as variações de sinais produzidos pela pouca homogeneidade nos substratos de celulose e variação de posição da amostra no centro do substrato, gerando a dispersão dos resultados. No entanto, por meio dos estudos com o substrato de nylon, observou-se que o principal fator que afeta a repetitividade não é a variação do sinal de fundo do substrato, mas sim a variação da posição da gota de amostra na região central do substrato (onde incide a radiação de excitação), visto que a contribuição deste fator na incerteza do método com os dois substratos foram semelhantes.

Para avaliar a aplicabilidade do método foram realizados testes de recuperação nos medicamentos para os dois alcalóides e nas matrizes urina e saliva para a CPT. Os resultados encontrados indicaram boa exatidão da técnica proposta. Testes comparativos entre a SSRTP e a HPLC-DF foram realizados e os resultados foram satisfatórios para um nível de 95% de confiança.

Como trabalhos em andamento e futuro têm-se: (i) desenvolvimento de um método fosforimétrico para a determinação do princípio ativo TPT em formulações farmacêuticas, (ii) continuidade no desenvolvimento de métodos fosforimétricos utilizando o substrato de nylon, visto que, de acordo com os resultados preliminares esse substrato é bastante promissor na área da SSRTP.

Para finalizar o trabalho, pontos positivos e negativos de cada método (métodos desenvolvidos e método de referência) para determinação traço de CPT foram considerados em termos de detectabilidade (LD e LQ), repetitividade, incerteza de medição, tempo de análise, custo operacional e gasto de solvente. Uma comparação qualitativa está apresentada na Tabela 17, onde os métodos foram classificados, para cada parâmetro, como “melhor avaliados” (+++), “de avaliação intermediária” (++) , “pior avaliados (+).

Por meio dessa tabela verifica-se que o método para determinação de CPT usando o substrato de nylon foi o que melhor atendeu aos parâmetros avaliados,

não apresentando nenhum ponto negativo. Enquanto o método de referência baseado no HPLC-DF²⁶ obteve a maior quantidade de pontos negativos apesar de ser o método que apresentou melhor detectabilidade (na ordem de ng mL⁻¹) quando comparado com os métodos fosforimétricos aqui desenvolvidos (ficaram na ordem de µg mL⁻¹). No entanto, para SSRTP, ainda pode ser feita a preconcentração do analito (SPE) a fim de melhorar a sensibilidade. Métodos baseados na SSRTP apresentaram melhor desempenho em comparação com HPLC por ter procedimento operacional simples, utilizar pequenas quantidades de amostras e não requerer custos com solventes de alta-pureza, filtros e colunas cromatográficas. Infelizmente, a automação dos métodos baseados na SSRTP prejudica sua adoção nas análises de rotina.

Tabela 19: Comparação entre os métodos de análise desenvolvidos. (+++) Melhor avaliação. (++) Avaliação intermediária. (+) Pior avaliação.

Parâmetros avaliados	CPT (N) ^a Substrato de celulose	CPT (D) ^b Substrato de celulose	CPT (N) ^a Substrato de nylon	HPLC ^c
Detectabilidade	+	+	++	+++
Repetitividade	+++	+++	+++	+++
Incerteza de medição	+++	++	+++	- ^d
Tempo de análise	++	++	+++	+
Custo operacional	+++	+++	+++	+
Geração de resíduos	+++	+++	+++	+

^a Varredura normal em 570 nm

^b Varredura de 2ª ordem em 367 nm

^c Método de referência Guo et al²⁶ adaptado

^d Não informado no método