

7

Conclusões e recomendações para trabalhos futuros

A derivatização fotoquímica provou ser uma ferramenta eficiente na indução da fluorescência das moléculas estudadas nesta Tese mediante a utilização de reatores fotoquímicos equipados com lâmpadas de mercúrio. Tal abordagem está em concordância com os preceitos da química verde, principalmente aqueles que se referem a: (i) uso de processos de síntese química menos perigosas, já que no processo de derivatização foram utilizadas radiação UV, um reator fechado e meio aquoso, cuja variação de pH era o único ajuste de condições reacionais; (ii) maior eficiência energética, já que as derivatizações fotoquímicas foram realizadas com lâmpadas de baixo consumo de energia e reatores operando em condições de temperatura moderada e pressão ambiente; e (iii) uma química mais segura, dado que foi evitado o uso de reagentes de derivatização química tóxicos no procedimento.

A derivatização fotoquímica da tetrabenazina (TBZ) em meio básico permitiu a fotólise do grupo funcional mais susceptível à radiação UV, o grupo cetona, para a formação de dois produtos em duas etapas. Primeiro, pela reação de Norrish Tipo II, na qual é eliminada a cadeia alifática da molécula e, na segunda etapa, pela eliminação do grupo cetona mediante o mecanismo de reação de Norrish tipo I. Em ambos os casos, foram formados derivados estáveis com maior rigidez estrutural, que foram identificados pela técnica de espectrometria de massas por desorção de plasma. Os fotoprodutos promoveram o ganho líquido de sinal analítico (fluorescência) de mais de cinco vezes ao se comparar com o sinal original da TBZ. Este aumento de sinal foi obtido tanto pelo aumento da fluorescência da TBZ, como pela diminuição do sinal de fundo, permitindo o desenvolvimento de um método espectrofluorimétrico para a determinação indireta da TBZ, em uma faixa linear de três ordens de magnitude (entre 10^{-8} e 10^{-5} mol L⁻¹) e com uma incerteza de medição menor que 16% do valor nominal da concentração. Esta abordagem permitiu a quantificação da TBZ no medicamento Xenazine® em três concentrações distintas ao longo da faixa linear. A aplicabilidade do método em matrizes biológicas (amostras de saliva fortificada com o analito) também foi

demonstrada. Com o método desenvolvido, o limite de detecção foi pelo menos um ordem de grandeza menor que o obtido pelos métodos que se baseiam na medição da absorvância da TBZ.

A exposição de soluções aquosas ácidas de amitriptilina (AMT) ao UV promoveu reações de fotólise em duas etapas: (i) eliminação da amina terciária da cadeia alifática da molécula e (ii) eliminação de parte da cadeia carbônica alifática. Essas reações de fotólise promoveram a formação de insaturações conjugadas com o sistema aromático da molécula, que favoreceram a indução da fluorescência, propriedade pouco relevante na molécula original. Os fotoprodutos fotoluminescentes formados após a derivatização da AMT foram identificados por GC-MS, que também permitiu também estabelecer a cinética de reação de fotólise da AMT. O aumento da fluorescência e a estabilidade do fotoproduto formado em meio ácido permitiram o desenvolvimento de um método espectrofluorimétrico para determinar AMT na faixa de concentração entre 10^{-7} e 10^{-6} mol L⁻¹. A adaptação da abordagem para a fotoderivatização da AMT em condições mais brandas (no meio de tampão fosfato) fez-se necessário na adaptação da abordagem para o desenvolvimento de um método por HPLC com detecção por fluorescência. A aplicabilidade da abordagem de derivatização fotoquímica foi avaliada na determinação indireta de AMT em um medicamento genérico e em material de referência farmacopéico usando tanto o método espectrofluorimétrico quanto o cromatográfico (HPLC). No caso do método cromatográfico, estudos com fluidos biológicos também foram realizados mostrando o potencial do método. Para ambos os métodos, a incerteza combinada, considerando as fontes mais relevantes que afetam o processo de medição, foram em torno de 5% do valor nominal da concentração medida. Comparando-se com a maioria dos métodos indicados na literatura, os métodos baseados na derivatização fotoquímica da AMT permitiram um ótimo compromisso entre limite de detecção e simplicidade instrumental e de procedimento.

No caso da exposição da vareniclina (VRN) ao UV em meio básico, a formação de fotoprodutos estáveis e mais fluorescentes que a molécula original foi alcançada. Baseando-se nos dados de literatura, o mecanismo de reação da fotólise da VRN aponta para a quebra do anel de 7 membros, contendo a amina secundária, de forma a obter os fotoprodutos fluorescentes. Com a derivatização obtida em meio básico concentrado, foi desenvolvido um método espectrofluorimétrico sensível para a determinação da VRN no medicamento

Champix® na faixa de concentração entre 10^{-8} e 10^{-6} mol L⁻¹. Na adaptação da abordagem para o uso do HPLC, a reação fotoquímica foi realizada em condições mais brandas (tampão fosfato) que permitiram a determinação do analito na faixa de concentração entre 10^{-7} e 10^{-5} mol L⁻¹. A incerteza de medição dos métodos foi estimada em torno de 8% da concentração nominal. A aplicabilidade de ambos os métodos foi avaliada para determinar VRN no medicamento Champix®, com resultados de recuperação satisfatórios. Os métodos para determinação de VRN desenvolvidos representam uma ótima alternativa aos poucos existentes para a quantificação deste analito em medicamentos.

Com os resultados apresentados neste trabalho, a maior parte dos objetivos programados inicialmente foi atingida, dado que a abordagem da derivatização fotoquímica para a indução de fluorescência foi aplicada com sucesso para o desenvolvimento de três métodos analíticos espectrofluorimétricos e a adaptação da abordagem para o HPLC demonstrada em dois casos. Algumas recomendações para futuros desenvolvimentos ou melhoramentos para os procedimentos desenvolvidos neste trabalho são apontados:

- Considerando que em todos os métodos analíticos houve uma incerteza de medição associada à variação da reação fotoquímica (precisão intermediária), recomenda-se a utilização de um reator fotoquímico que permita a rotação dos tubos no seu interior de modo a que todos os tubos recebam uma quantidade uniforme de radiação UV e com isso diminuir o valor esta fonte de incerteza.
- Otimizar as condições cromatográficas para determinar a AMT e VRN após derivatização fotoquímica, estabelecendo um padrão interno para as corridas cromatográficas.
- Para a utilização da fluorescência fotoinduzida em métodos cromatográficos, a abordagem de irradiação pós-coluna poderia ser explorada a modo de automatizar mais o processo de fotoderivatização.
- Embora a técnica de HPLC seja uma técnica robusta e altamente documentada e utilizada para a análise de medicamentos, a utilização da eletroforese capilar como técnica de separação acoplada à derivatização fotoquímica com detecção por luminescência induzida por laser pode ser considerada como

alternativa para diminuir o volume utilizado de solvente orgânico, e com isso, obter uma metodologia ainda mais “verde”.

- No caso dos métodos espectrofluorimétricos, a utilização da calibração multivariada pode viabilizar a determinação da VRN e AMT em matrizes biológicas complexas usando a abordagem da derivatização fotoquímica.