



**CENTRO UNIVERSITÁRIO SAGRADO CORAÇÃO**

**ANA LAURA AFFONSO DE OLIVEIRA**

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE PARÂMETROS DE ESPECIFICIDADE E  
SENSIBILIDADE DO “SPOT TEST” NA ANÁLISE DE FÁRMACOS  
ANTIDEPRESSIVOS TRICÍCLICOS**

**BAURU**

**2022**

**ANA LAURA AFFONSO DE OLIVEIRA**

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE PARÂMETROS DE ESPECIFICIDADE E  
SENSIBILIDADE DO “SPOT TEST” NA ANÁLISE DE FÁRMACOS  
ANTIDEPRESSIVOS TRICÍCLICOS**

**Monografia de Iniciação Científica do curso  
de Farmácia apresentado a Pró-Reitoria de  
Pesquisa e Pós-Graduação do Centro  
Universitário Sagrado Coração.**

**Orientador: Prof. Me. Fernando Tozze  
Alves Neves.**

**BAURU**

**2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Oliveria, Ana Laura Affonso

P324a

AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE PARÂMETROS DE ESPECIFICIDADE E SENSIBILIDADE DO “SPOT TEST” NA ANÁLISE DE FÁRMACOS ANTIDEPRESSIVOS TRICÍCLICOS/  
Ana Laura Affonso de Oliveira. -- 2022.

25f. : il.

Orientador: Prof. Me Fernando Tozze Alves Neves

Monografia (Iniciação Científica em Farmácia) - Centro  
Universitário Sagrado Coração - UNISAGRADO - Bauru - SP

..

1. Antidepressivos Tricíclicos . 2. Intoxicações . 3. Spot teste. 4.  
Reativos Colorimétricos . I. Neves, Fernando Tozze Alves. II. Título.

## RESUMO

Os medicamentos representam a principal causa de intoxicações no Brasil, com média 30% dos casos notificados anualmente. Nestas circunstâncias o indivíduo faz uso de vários medicamentos ao mesmo tempo, o que dificulta os atendimentos de urgência toxicológica, no que diz respeito a identificação exata do(s) medicamento(s) responsáveis pela intoxicação. Dessa forma, torna-se necessário que os laboratórios de toxicologia de urgência tenham diferentes reativos colorimétricos com uma ampla margem de sensibilidade e especificidade, a fim de garantir confiabilidade ao liberar um laudo toxicológico. Sendo assim, este trabalho avaliou a especificidade de diferentes reativos químicos frente aos medicamentos antidepressivos mais frequentemente encontrados nas intoxicações por tentativa de auto-extermínio. Para tanto foram testados, individualmente 5 fármacos diferentes nas quantidades de 10, 20 e 50 mg em placa de porcelana escavada. A esta quantidade de fármaco foi adicionada de 3 a 5 gotas dos reativos de FPN, Forrest, DRAGENDORFF, Cloreto Férrico, Marquis, Silmon e Verde Bromocresol separadamente, e observado a formação de cor e a positividade ao teste. A partir disto, foram realizadas duas formas de triagem: (1) positividade/negatividade frente ao reativo colorimétrico e (2) especificidade do reativo frente aos diferentes tipos de fármacos testados por meio da observação das tonalidades de cor obtidas. Foi possível verificar que os reativos FPN, FORREST e Silmon apresentaram maior seletividade de identificação de fármacos antidepressivos se comparado aos outros reativos testados. Em relação a sensibilidade, foi possível verificar que ambos os reativos apresentaram a mesma menor concentração de identificação para os fármacos imipramina e clomipramina.

Palavras-chave: Antidepressivos Tricíclicos. Intoxicações. Spot teste. Reativos Colorimétricos.

## ABSTRACT

Medicines represent the main cause of poisoning in Brazil, with an average of 30% of cases reported annually. In these circumstances, the individual uses several drugs at the same time, which makes it difficult to perform toxicological emergency care, with regard to the exact identification of the drug(s) responsible for the intoxication. Thus, it is necessary that emergency toxicology laboratories have different colorimetric reagents with a wide margin of sensitivity and specificity, in order to guarantee reliability when releasing a toxicological report. Therefore, this work evaluated the specificity of different chemical reagents against the antidepressant drugs most frequently found in intoxications by self-extermination attempts. For that, 5 different drugs were individually tested in the amounts of 10, 20 and 50 mg in an excavated porcelain plate. To this amount of drug, 3 to 5 drops of FPN, Forrest, DRAGENDORFF, Ferric Chloride, Marquis, Silmon and Bromocresol Green reagents were added separately, and color formation and test positivity were observed. From this, two forms of screening were performed: (1) positivity/negativity towards the colorimetric reagent and (2) specificity of the reagent towards the different types of drugs tested by observing the color tones obtained. It was possible to verify that the FPN, FORREST and Silmon reagents showed greater selectivity for identifying antidepressant drugs when compared to the other reagents tested. Regarding sensitivity, it was possible to verify that both reagents presented the same lower concentration of identification for the drugs imipramine and clomipramine.

Key words: Tricyclic Antidepressants. intoxications. Spot test. Colorimetric Reagents.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>5</b>
<b>2 JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>7</b>
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>8</b>
3.1 OBJETIVOS GERAIS .....	8
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	8
<b>4 DESENVOLVIMENTO .....</b>	<b>9</b>
<b>4.1 Depressão.....</b>	<b>9</b>
<b>4.2 Antidepressivos .....</b>	<b>10</b>
<b>4.3 Métodos de identificação toxicológica.....</b>	<b>11</b>
<b>5 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>12</b>
5.1 MATERIAL.....	12
5.2 MÉTODOS.....	12
5.2.1 Teste de Sensibilidade com os reativos colorimétricos .....	12
5.2.2 Teste de Especificidade com os reativos colorimétricos .....	13
<b>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>21</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>22</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A depressão é um problema comum na sociedade ocidental, com uma prevalência ao longo da vida superior a 16%. Numerosos medicamentos têm sido utilizados para combater esta doença, incluindo Antidepressivos Tricíclicos (ADTs). Apesar do uso decrescente de ADTs, sua utilização ainda é comum e está associada a morbidade e mortalidade significativas. (FERNANDES *et al.*, 2006).

Os tricíclicos (amitriptilina, doxepina, imipramina, desipramina, protriptilina, clomipramina, nortriptilina entre outros) são os antidepressivos mais antigos e os mais intimamente relacionados com as fenotiazidas possuindo uma cadeia lateral de amina terciária (FERNANDES *et al.*, 2006; MARCOS, 2019).

Embora a overdose por ADT intencional apresente apenas uma taxa de mortalidade de 3%, representa uma das principais causas de internação na UTI e morte intra-hospitalar entre os pacientes com ingestão de overdoses intencionais. Nos EUA, o ADT é responsável pelo terceiro maior número de mortes, e a amitriptilina é o agente causador mais comum entre os ADTs (CARVALHO *et al.*, 2017; MARCOS, 2019).

Esses fármacos aparecem frequentemente nas tentativas de suicídio, mesmo porque são muito utilizadas por pacientes que apresentam um risco aumentado de ideação suicida. Das internações ocorridas por ingestão de antidepressivos, há maior gasto hospitalar naquelas por ADT do que naquelas por inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRS), chegando a ser 4 vezes maior, por causa da maior toxicidade dos primeiros. Demonstrou-se também que a internação por ADT é mais longa do que aquela por ISRS10 (FERNANDES *et al.*, 2006).

Os medicamentos representam a primeira causa de intoxicações registradas no Sistema Nacional de Informações Fármaco-Toxicológicas (SINITOX) no Brasil, sendo as circunstâncias acidentais e de tentativas de auto-extermínio aparecem como as principais responsáveis pelos atendimentos de urgência e emergência nos Pronto Atendimentos Hospitalares (LESSA; BOCHNER, 2008).

Normalmente os pacientes atendidos apresentam uma combinação de uso de diferentes medicamentos, o que dificulta a identificação exata dos seus componentes além de complicar o diagnóstico clínico devido a variedade de mecanismos farmacológicos e efeitos envolvidos (CARVALHO *et al.*, 2017).

Nestas situações, torna-se extremamente importante a participação do laboratório de toxicologia clínica, por meio de realização de análises físico químicas passíveis de auxiliar na definição do(s) agente(s) causadore(s) da intoxicação.

Diferentes técnicas analíticas podem ser utilizadas, sendo que, as análises qualitativas apresentam melhor indicação pois são direcionadas a identificar por meio de ensaios rápidos os agentes tóxicos presentes na intoxicação (PASSAGLI *et al.*, 2007).

Dentre as análises qualitativas disponíveis, podemos citar os testes de triagem com reativos colorimétricos. Estes testes podem ser realizados tanto em tubos de ensaio como em placas de porcelana, sendo escolhido de acordo com a disponibilidade de materiais no laboratório e quantidade de amostra. As amostras podem ser: sangue, urina, lavado gástrico ou mesmo partes dos medicamentos, que por muitas vezes são encontrados juntamente com os pacientes intoxicados (LARINI, 1997).

Estes reativos químicos colorimétricos apresentam o princípio da identificação de grupamentos funcionais como álcoois, cetonas, ácidos carboxílicos, aminas, amidas, fenóis, hidrocarbonetos halogenados, dentre outros. Entretanto, poucos são os reativos que dentro de um grupo de substâncias químicas com moléculas semelhantes, apresenta uma seletividade ou especificidade de diferenciar em particular cada um dos compostos. Nestes casos, torna-se necessário o uso de técnicas complementares para a confirmação da presença de um composto químico na amostra avaliada (PASSAGLI *et al.*, 2007).

Desta forma, torna-se importante a caracterização dos níveis de sensibilidade e especificidade destes reativos afim de assegurar um bom resultado analítico. Neste sentido, este trabalho tem como objetivo avaliar os parâmetros de sensibilidade e especificidade, pouco descritos na literatura científica, para diferentes tipos de reativos químicos colorimétricos utilizados em técnicas de triagem toxicológica frente a amostras de medicamentos antidepressivos mais usualmente encontrados em intoxicações agudas.

## **2 JUSTIFICATIVA**

Os testes rápidos em placa de spot ou “spot test” representam uma importante e alternativa nas análises toxicológicas de urgência devido a rapidez na identificação qualitativa do possível agente tóxico responsável pelos sinais e sintomas da intoxicação. Entretanto, na literatura científica, encontram-se poucas informações disponíveis referentes a sensibilidade e especificidade dos reativos colorimétricos frente aos diferentes tipos de compostos antidepressivo. Desta forma, torna-se importante a caracterização dos níveis de sensibilidade e especificidade destes reativos afim de assegurar um resultado analítico confiável.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVOS GERAIS**

Avaliar os níveis de sensibilidade e especificidade dos reativos colorimétricos para a identificação de medicamentos antidepressivos.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar e comparar os níveis de sensibilidade dos reativos colorimétricos para a identificação de medicamentos antidepressivos
- Avaliar e comparar os níveis de especificidade dos reativos colorimétricos para a identificação de medicamentos antidepressivos

## 4 DESENVOLVIMENTO

### 4.1 DEPRESSÃO

A depressão pode ser conceituada, como alterações psicomotoras em relação ao estado de tristeza e desprazer em realizar atividades no geral, além de perder o interesse pelo ambiente, assim demonstrando autodesvalorização e sentimentos de culpa, fadiga, diminuição do pensamento lógico e na concentração, alterações do sono e do apetite, retraimento social, crises de choro e comportamentos suicidas, e segundo cientistas, também pode estar relacionada a percas materiais ou afetivas (DEPRESSÃO, 1999).

Uma das alterações comumente relatadas, são as alterações circadianas, que se destacam pela desregulação da liberação de cortisol, tendo sua produção mais acelerada, fazendo com que o paciente não atinja o sono REM, e desperte mais cedo pela manhã, percebendo-se cansado ou estressado ao longo do dia por uma noite mal dormida (DEPRESSÃO, 1999).

De acordo com Lopes (2005), as pessoas se vêem diante de muitos estímulos e novas situações impostas pela sociedade, como objetivo de sua felicidade, e isso faz com que tenham que reagir ou se adaptar, e quando não realizado de maneira esperada, ficam frustrados e decepcionados, podendo desencadear estados de ansiedade e depressão, isso pode ser exemplificado quando se pensa na competitividade imposta pelo mercado de trabalho ou escolas e cursinhos preparatórios de vestibular.

O transtorno depressivo, pode ser passado hereditariamente, ou seja, possui fatores genéticos na sua causa, e uma vez aceita essa explicação, fala-se sobre a função alterada de monoaminas (Norepinefrina e serotonina) que agem como neurotransmissores sinápticos ou moduladores neuro-hormonais, nas transmissões nervosas do sistema nervoso central. Logo, como estas substâncias são responsáveis por levar mensagens de uma célula nervosa, ou neurônio, a outra e conseqüentemente controlar vigília, sono, sede, agressão, movimentos, ritmos circadianos e função hipotalâmico-hipofisária; se elas se encontram diminuídas, levam ao surgimento da depressão (LOPES, 2005).

Estima-se que até 24% da população passa por quadros depressivos e necessitam de cuidados clínicos durante a vida. Segundo a OMS (organização mundial da saúde), a doença afeta 50 milhões de pessoas no mundo todo, sendo a maior causa de incapacidade relacionada a saúde, além de trazer possíveis agravos aos pacientes, como casos de intenções suicidas, comuns na adolescência, que pode ir e vir a qualquer momento e por isso a importância de se seguir as recomendações terapêuticas e realizar os tratamentos com antidepressivos de maneira correta quando necessário (LOPES, 2005).

## 4.2 ANTIDEPRESSIVOS

Os antidepressivos são medicamentos que possuem por objetivo a amenização e tratamento dos sintomas dos transtornos da depressão, tendo seu surgimento por volta dos anos 50, sendo classificados de acordo com a estrutura química ou as propriedades farmacológicas. A estrutura cíclica (anéis benzênicos) caracteriza os antidepressivos heterocíclicos (tricíclicos e tetracíclicos) (PSICOFARMACOLOGIA DE ANTIDEPRESSIVOS, 1999).

Os tricíclicos, são os antidepressivos mais antigos, e agem de forma a bloquear a recaptação de norepinefrina (aminas secundárias) e serotonina (aminas terciárias), aumentando a concentração destas substâncias na fenda sináptica, causando maior sensação de bem estar, além de regular diversas funções como o sono e o humor. Agem também sobre os receptores muscarínicos (colinérgicos), histaminérgicos de tipo 1,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ -adrenérgicos e serotoninérgicos, os bloqueando, estando estes mecanismos associados aos efeitos adversos. Além disso, possuem linearidade, já que a concentração plasmática será proporcional as doses administradas (SILVA, 2010)

No entanto, essa classe de medicamentos, apesar de diversas possibilidades terapêuticas (tratamento da depressão, profilaxia da enxaqueca, tratamento de dor crônica, abstinência de cocaína, enurese noturna em crianças), é uma das classes com maior potencial para intoxicações graves, sendo a maior causa de morte por intoxicação medicamentosa nos EUA e um dos três maiores grupos de medicamentos relacionados a tentativa de suicídio no Brasil (PASSAGLI; CARVALHO, 2007)

Para que a intoxicação ocorra, o paciente precisa ingerir uma dose maior que a recomendada diariamente para o seu tratamento, e pode começar a apresentar alguns sinais como convulsões, letargia, aumento da frequência cardíaca, visão turva, sedação entre outros, que levará ao tratamento com carvão ativado, lavagem gástrica e catártico salino, e realizar observação de no mínimo 6 horas do paciente. No entanto, para que o tratamento seja iniciado, é preciso diagnosticar rapidamente a substância, isso sendo feito por meio de técnicas analíticas toxicológicas (PSICOFARMACOLOGIA DE ANTIDEPRESSIVOS, 1999).

### 4.3 MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO TOXICOLÓGICA

Nos casos de intoxicação, os pacientes precisam passar por uma rápida triagem para se detectar o melhor diagnóstico e como consequência o melhor tratamento a ser realizado, por isso alguns métodos são feitos e podem ser: testes colorimétricos (que se baseiam na mudança de coloração, caso haja afinidade por alguma parte da molécula da substância que se deseja constatar, pela adição de um reagente a amostra biológica coletada do paciente, onde a coloração pode variar de intensidade conforme a dosagem, e as tonalidades podem ser relativas a cada indivíduo), cromatografia em camada delgada e cromatografia gasosa (estas sendo técnicas de identificação por separação de compostos através de uma fase móvel e uma fase estacionária), imunoensaios (teste bioquímico por meio de enzimas para se descobrir a concentração de macro ou micro moléculas em uma solução) e espectrometria de massas (identificação de substâncias pela determinação de sua massa) (MELLO, 1997).

Na prática analítica forense, diversos tipos de reagentes químicos podem ser utilizados para a identificação qualitativa de medicamentos em intoxicações (PASSAGLI; CARVALHO, 2007).

Os Spot testes representam uma técnica de identificação de drogas ilícitas presumida comumente usada por policiais, segurança de fronteira e laboratórios forenses. A simplicidade, o baixo custo e os resultados rápidos proporcionados por esses testes os tornam particularmente atraentes para a identificação presuntiva globalmente (PHILP; FU, 2017).

Entretanto, poucos estudos sobre a sensibilidade e especificidade destes reativos frente aos diferentes medicamentos estão descritos na literatura.

## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 MATERIAL

As matérias primas utilizadas para o desenvolvimento dos testes toxicológicos estão descritas na Figura 1 abaixo:

Figura 1 - Matérias Primas utilizadas para a realização dos testes de triagem toxicológica em placa de spot.

<b>MATÉRIAS PRIMAS</b>
Amitriptilina
Clomipramina
Desiparmina
Imipramina
Nortriptilina

Fonte: elaborado pela autora.

Os materiais utilizados para a realização dos testes de spot estão descritos na Figura 2.

Figura 2 - Materiais utilizados para a realização dos testes de triagem toxicológica em placa de spot.

<b>Materiais</b>
Placa escavada de porcelana
Bastão de vidro
Espátula de metal
Conta gotas

Fonte: Elaborado pela autora.

### 5.2 MÉTODOS

#### 5.2.1 Teste de Sensibilidade com os reativos colorimétricos

Transferir separadamente 10, 25 e 50 mg das amostras descritas na Figura 1 para a placa de porcelana escavada (placa de spot). Sobre cada uma das amostras adicionar 5 gotas do reativo de cada um dos reativos colorimétricos (FORREST, FPN, DRAGENDORFF, CLORETO FÉRRICO, MARQUIS, SILMON, VERDE DE BROMOCRESOL) e com o auxílio do bastão de vidro, homogeneizar a amostra. Observar a coloração formada. Realizar este procedimento com todas as amostras. A partir das colorações formadas, identificar a positividade do teste contra um branco de reagentes (somente o reagente sem a amostra)

### **5.2.2 Teste de Especificidade com os reativos colorimétricos**

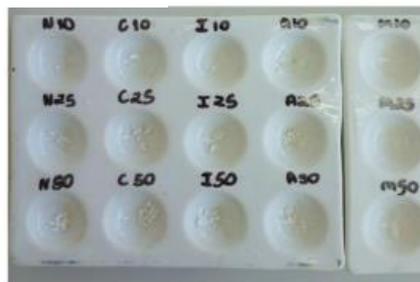
Transferir separadamente 50 mg as amostras descritas na Figura 1 para a placa de porcelana escavada (placa de spot). Sobre cada uma das amostras adicionar 5 gotas de cada um dos reativos colorimétricos (FORREST, FPN, DRAGENDORFF, CLORETO FÉRRICO, MARQUIS, SILMON, VERDE DE BROMOCRESOL), separadamente, e com o auxílio do bastão de vidro, homogeneizar a amostra. Observar a coloração formada. A partir das colorações formadas, identificar a especificidade do teste contra um branco de reagentes (somente o reagente sem a amostra).

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes de triagem toxicológica podem ser realizados tanto em tubos de ensaio como em placas de porcelana (“Spot test”). Em ambos os casos o volume de reagente a ser utilizado é otimizado. O “Spot test” representa um dos principais testes presuntivos que auxiliam no direcionamento metodológico em uma análise toxicológica, podendo ser utilizado principalmente para fármacos e drogas de abuso (CHASIN, 2008).

Inicialmente foram realizados os testes de sensibilidade com os fármacos antidepressivos tricíclicos amitriptilina, nortriptilina, clomipramina, imipramina e maproptilina com os reagentes FPN e Forrest. Para tanto foram pesadas individualmente 10 mg, 25 mg e 50mg de cada fármaco e colocados na placa escavada de “Spot Test” (Figura 3)

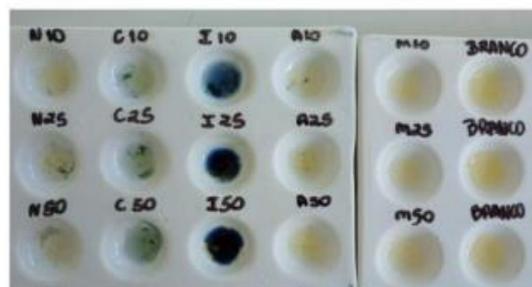
Figura 3 - Placa de Spot Test



Fonte: Elaborado pela Autora (2022)

Foi possível verificar conforme demonstrado na figura 4 abaixo que ocorre sensibilidade para a reação do reagente de FORREST desde a concentração de 10 mg para os fármacos Clomipramina e Imipramina, sendo que, a intensidade da cor apresentou um aumento gradual com o incremento da concentração do fármaco.

Figura 4 - Resultados obtidos com o Reativo de FORREST



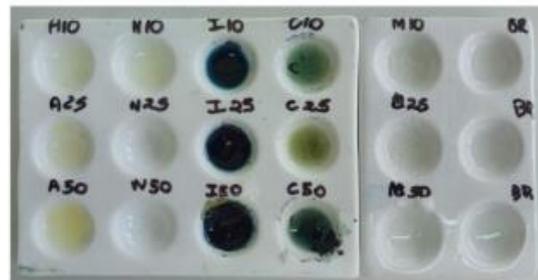
Fonte: Elaborado pela autora (2022)

Legenda: A – Amitriptilina; C- Clomipramina; I – Imipramina; M – Maproptilina; N – Nortriptilina

Obs.: Concentrações utilizadas 10, 25 e 50 mg

Na avaliação da sensibilidade para a reação com reativo FPN, foi possível verificar a formação de coloração de positividade desde a concentração de 10 mg para os fármacos Clomipramina e Imipramina, e nas concentrações de 25 e 50 mg para o fármaco amitriptilina (Figura 5). Da mesma forma que o reativo de FORREST, a intensidade da cor apresentou um aumento gradual com o incremento da concentração do fármaco.

Figura 5 - Resultados obtidos com o Reativo FPN



Fonte: Elaborado pela autora (2022)

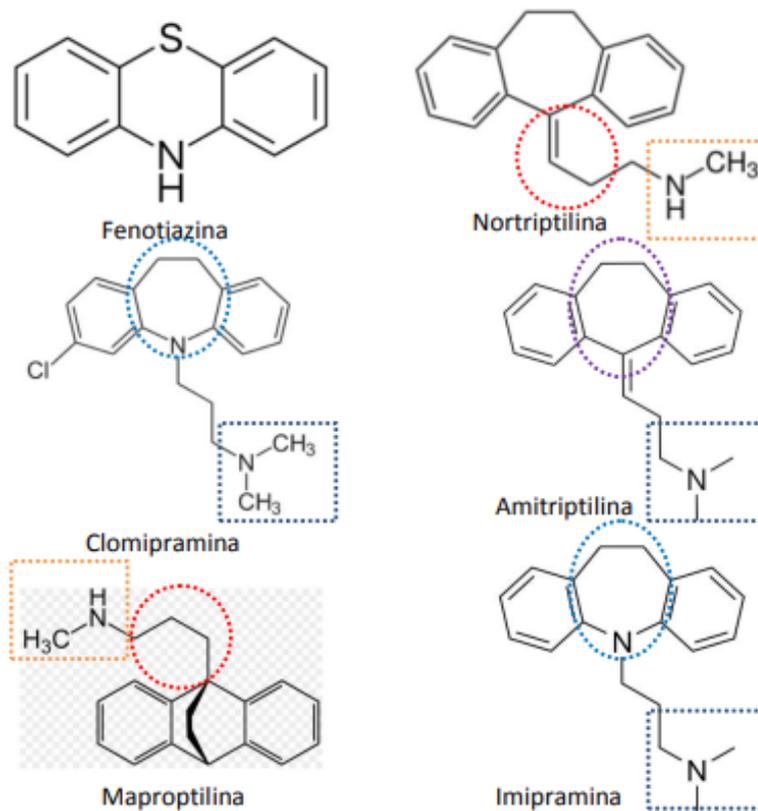
Legenda: A – Amitriptilina; C- Clomipramina; I – Imipramina; M – Maptortilina; N – Nortriptilina; BR – Branco de reativos

Obs.: Concentrações utilizadas 10, 25 e 50 mg

Tradicionalmente os reativos colorimétricos Forrest e FPN são usados, respectivamente, na detecção urinária de fenotiazinas e antidepressivos tricíclicos. Conforme demonstrado nas figuras 2 e 3 acima, os fármacos amitriptilina, imipramina e clomipramina apresentaram a formação de coloração característica, o que representa positividade para o teste de identificação. Tais fármacos apresentam uma estrutura fenotiazídica caracterizada por um anel da cadeia heterocíclica e uma amina terciária (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1995).

Já no caso da maprotilina e nortriptilina, a não formação de coloração representativa de positividade nas concentrações testadas, pode estar associada a presença de uma secundária fora do anel (maprotilina) e de uma amina primária fora do anel (nortriptilina, fármaco obtido por reação de desmetilação da amitriptilina). Além disso, estes dois fármacos apresentam início de ciclização da extensão carbônica abaixo do anel tricíclico, o que pode ser um fator estérico que desfavorece a ligação do reativo colorimétrico com o fármaco (Figura 6)

Figura 6 - Estruturas moleculares dos fármacos

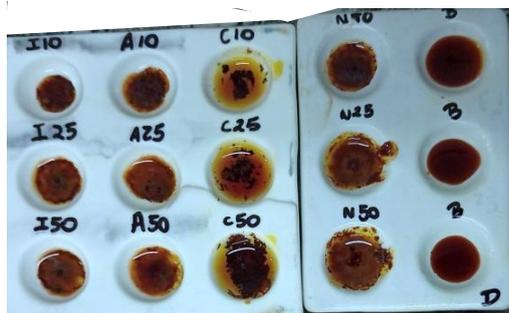


Fonte: Elaborado pela Autora (2022)

Muitas substâncias se apresentadas na concentração necessária e na ausência de compostos interferentes podem ter características de cor com o reagente adequado. Alguns testes possuem aplicabilidade específica, no entanto, compostos contendo grupos funcionais similares, outras substâncias ou contaminantes, são de se esperar que interfiram nos resultados. No entanto, as cores obtidas são subjetivas a cada indivíduo, a tonalidade pode variar de acordo com a concentração, e podem apresentar instabilidade (PASSAGLI et al., 2007).

Na avaliação da sensibilidade e especificidade do reativo de DRAGENDORFF frente aos compostos antidepressivos tricíclicos, foi possível verificar a formação de coloração que indica positividade ao teste para todos os compostos (Figura 7).

Figura 7 - Resultados obtidos com o Reativo DRAGENDORFF



Fonte: Elaborado pela autora (2022)

Legenda: A – Amitriptilina; C- Clomipramina; I – Imipramina; M – Maptorptilina; N – Notriptilina;  
B – Branco de reativos

Obs.: Concentrações utilizadas 10, 25 e 50 mg

O reativo de DRAGENDORFF é utilizado para identificação de compostos alcaloides, azotados heterocíclicos, ou seja, com pelo menos uma ligação carbono-nitrogênio, e aminas terciárias. Trata-se de uma solução de iodeto de bismuto e potássio, na qual o nitrato de bismuto reage com iodeto de potássio em solução ácida (normalmente através do uso de ácido acético ou ácido tartárico) e forma um sal com cor laranja –  $K[BiI_4]$ . Em condições ácidas, as aminas terciárias ficam no seu estado protonado e a adição do reagente leva à formação de um precipitado corado, entre  $[BiI_4]^-$  e  $[HNR_3]^+$ , permitindo assim a detecção destes compostos (RAAMAN, 2006).

A coloração na presença de substâncias com estes grupamentos, podem variar do amarelo ao vermelho acastanhado, como foi possível observar em todas as amostras dos medicamentos testados, já que todas condiziam com as estruturas necessárias para a reação ocorrer (FCIENCIAS, 2022).

Resultados semelhantes foram descritos por Herculano (2015) quanto a formação de coloração alaranjada, quando positivo, utilizando o reativo de DRAGENDORFF em fármacos antidepressivos tricíclicos.

Na avaliação da sensibilidade e seletividade do reativo cloreto férrico, foi possível verificar que apenas a imipramina apresentou positividade desde a concentração de 10 mg, adquirindo coloração vermelho acastanhado (Figura 8).

Figura 8 - Resultados obtidos com o Reativo CLORETO FÉRRICO



Fonte: Elaborado pela autora (2022)

Legenda: A – Amitriptilina; C- Clomipramina; I – Imipramina; M – Maptoprilina; N – Nortriptilina;  
B – Branco de reativos

Obs.: Concentrações utilizadas 10, 25 e 50 mg

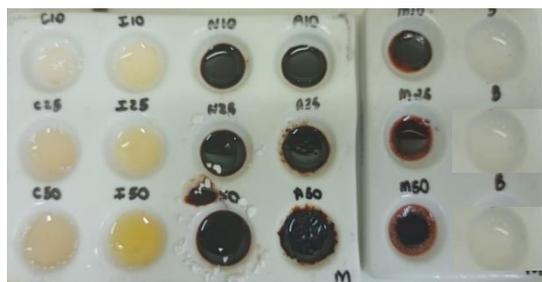
O Reativo de Cloreto Férrico a 5% por sua vez tem aplicação na detecção de compostos fenólicos. (MOREIRA; CALDAS, 2001).

Segundo Palamini (2014) os reativos de Dragendorff, FPN, Verde de Bromecresol, Forrest e Cloreto férrico, se mostraram efetivos em testes de sensibilidade utilizando compostos Benzodiazepínicos, porém quando testados com fármacos antiinflamatórios foi observado positividade com todos os reagentes. O reativo de Marquis também foi utilizado sendo o único que apresentou resultados positivos em ambas as pesquisas.

Segundo Hibou (2016), altas concentrações de compostos fenotiazínicos na estrutura podem ser identificados por este reagente e por apresentar estrutura parecida, a imipramina foi a única cuja reação foi positiva. A clomipramina, também possui grande semelhança, no entanto, dentre seus radicais, está um Cl, que possivelmente tenha dificultado a identificação.

Na avaliação da sensibilidade e seletividade do reativo de Marquis, foi possível verificar que todos os fármacos apresentaram formação de coloração (nortriptilina, amitriptilina e maproptilina, adquirindo coloração vermelho escuro, e a clomipramina e imipramina, mudaram levemente a coloração para um amarelo discreto, quase que imperceptível) em todas as concentrações analisadas (Figura 9).

Figura 9 - Resultados obtidos com o Reativo de Marquis



Fonte: Elaborado pela autora (2022)

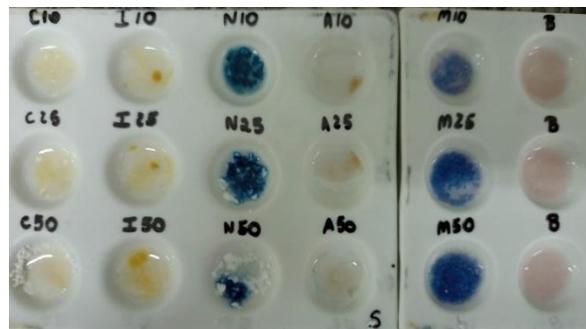
Legenda: A – Amitriptilina; C- Clomipramina; I – Imipramina; M – Maptoprilina; N – Nortriptilina;  
B – Branco de reativos

Obs.: Concentrações utilizadas 10, 25 e 50 mg

Segundo MOREIRA; CALDAS (2001) o reativo de Marquis tem sido amplamente utilizado na detecção de compostos a base de aminas orgânicas principalmente as drogas anfetamínicas. Hibou (2016) também declara que moléculas que possuam em sua estrutura cadeia aromática seguida de NH<sub>2</sub> estão propensas a caracterizar positividade ao teste.

Na avaliação com o uso do reativo de Silmon foi possível verificar que todos os fármacos testados apresentaram formação de coloração (maproptilina e a nortriptilina ficaram azuladas e a clomipramina, imipramina e a amitriptilina ficaram levemente amareladas) em todas as concentrações testadas (Figura 10).

Figura 10 - Resultados obtidos com o Reativo de Silmon



Fonte: Elaborado pela autora (2022)

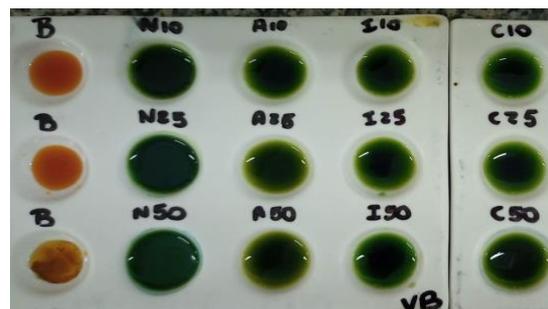
Legenda: A – Amitriptilina; C- Clomipramina; I – Imipramina; M – Maproptilina; N – Nortriptilina;  
B – Branco de reativos

Obs.: Concentrações utilizadas 10, 25 e 50 mg

A formação de colorações com tonalidade diferentes representa uma importante característica quanto a seletividade deste tipo de reativo. Segundo Hibou (2016), as aminas secundárias ou heterocíclicas, são sensíveis a este reagente, e por isso pode-se concluir que os fármacos apresentaram resultado positivo, por possuírem a estrutura necessária para identificação, ou seja, aminas secundárias e heterocíclicas.

Na avaliação do reativo de verde de bromocresol foi possível verificar que todos os fármacos testados, em todas as concentrações, apresentaram a formação de coloração positiva ao teste (Figura 11)

Figura 11 - Resultados obtidos com o Reativo Verde de Bromocresol



Fonte: Elaborado pela autora (2022)

Legenda: A – Amitriptilina; C- Clomipramina; I – Imipramina; M – Maproptilina; N – Nortriptilina;  
B – Branco de reativos

Obs.: Concentrações utilizadas 10, 25 e 50 mg

Embora este tipo de reativo seja muito utilizado como indicador em titulações volumétricas, pode-se considerar como um reativo preliminar no processo de identificação do caráter do pH de um fármaco. Sofre mudanças de coloração de acordo com o pH, sendo que, em valores menores ou iguais a 3,8 se torna amarelo, entre 3,8 e 5,4 torna-se verde e igual ou acima de 5,4, se torna azul. No caso dos fármacos testados, todas as estruturas possuem aminas secundárias ou terciárias, desse modo, o pka da molécula se torna levemente básico, ficando entre 4 e 6 segundo Silva (2022), o que proporcionou a formação da coloração verde.

## 7 CONCLUSÃO

Os reativos colorimétricos utilizados na realização de testes de identificação de fármacos como no caso do “Spot Test” representam uma importante ferramenta durante o processo de triagem toxicológica de amostra desconhecidas.

O grau de sensibilidade destes reativos apresentou-se adequado as características analíticas do teste, enquanto que a especificidade foi variável, visto que, nem todos os reativos conseguiram diferenciar os fármacos quanto a formação de colorações específicas para cada fármaco. Entretanto, a combinação da avaliação dos resultados obtidos favorece um direcionamento com maior confiabilidade analítica do possível fármaco presente na amostra analisada.

Sendo assim, considera-se que a presença e disponibilidade de diferentes tipos de reativos colorimétricos nos laboratórios de toxicologia é essencial para o correto cruzamento das informações obtidas.

## REFERÊNCIAS

- CARVALHO, I. L.N. *et al.* A intoxicação por psicofármacos com motivação suicida: uma caracterização em idosos. **Rev. Bras. Geriatr. Gerontol.** v. 20, n.1, p.129-37, 2017.
- CHASIN, A. A. M. **Análises Forenses.** In. MOREAU, R. L. M.; SIQUEIRA, M. E. P. B. Ciências Farmacêuticas: Toxicologia Analítica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. Cap 7. p. 70-8
- DE MARTIN, A. P. **Avaliação comparativa dos métodos de detecção de fluidos biológicos contendo fenotiazínicos.** Orientador: Fernando Tozze Alves Neves. 2013. 51f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) – Centro de Ciências Exatas e Aplicadas, Universidade do Sagrado Coração, 2013.
- DEPRESSÃO.** São Paulo: Brasil Psiquiatra, 1999. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbp/a/dwLyt3cv3ZKmKMLXv75Tbxn/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 26 set. 2022.
- FCIENCIAS. Teste de Dragendorff – Laboratório Online. Disponível em: <https://www.fcencias.com/2015/11/05/teste-de-dragendorff-laboratorio-online/>. Acesso em: 14 ago. 2022.
- HERCULANO, J. F. **Triagem toxicológica de medicamentos por análise em microplaca (spot).** 2015. Graduação em Biomedicina) – Centro Universitário Sagrado Coração, Bauru, 2015.
- HIBOU, Vincent. **Colour tests methods.** 2016. Disponível em: <https://www.analyticaltoxicology.com/en/colour-tests-methods/>. Acesso em: 15 ago. 2022.
- LARINI, L. **Toxicologia.** 1 ed. São Paulo: Manole Ltda, 1997.
- LESSA, M. A.; BOCHNER, R. Análise das internações hospitalares de crianças menores de um ano relacionadas a intoxicações e efeitos adversos de medicamentos no Brasil. **Rev. Bras. Epidemiol.** v. 11, n. 4, p. 660-7, 2008.
- LIMA, G B.; NUNES, L. C. C.; BARROS, J. A. C. Uso de medicamentos armazenados em domicílio em uma população atendida pelo Programa Saúde da Família. **Ciência saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v. 15, supl. 3, p.3517-3522, Nov. 2010. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-81232010000900026&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232010000900026&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 14 Fev. 2022.
- LOPES, J. P. **DEPRESSÃO: UMA DOENÇA DA CONTEMPORANEIDADE. UMA VISÃO ANÁLITICO-COMPORTAMENTAL.** 2005. 82 f. TCC (Graduação) - Curso de Psicologia, Centro Universitário de Brasília., Brasília, 2005. Disponível em: <https://repositorio.uniceub.br/jspui/bitstream/123456789/3069/2/20074556.pdf>. Acesso em: 27 set. 2022.
- MARTIN, A. P. **Avaliação comparativa de métodos de detecção de fluidos biológicos contendo fenotiazínicos.** 2013. (Graduação em Química) – Centro Universitário Sagrado Coração, Bauru, 2013.

MELLO, S. M. de. **Cromatografia em fase gasosa como técnica de triagem para diagnóstico laboratorial das intoxicações agudas por medicamentos que causam síndrome de depressão do sistema nervoso central**. 1997. 130 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Toxicologia e Análises Toxicológicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9137/tde-23032009-095640/publico/SueliMello.pdf>. Acesso em: 03 out. 2022.

MOREIRA, A. H. P.; CALDAS, L. Q. **A Intoxicações agudas: bases do diagnóstico clínico-laboratorial de urgência**. 1 ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2001.

OLIVEIRA, E. F. Avaliação comparativa dos métodos de detecção de fluídos biológicos contendo fenotiazínicos. 2012. (Graduação em Farmácia) – Universidade Sagrado Coração, Bauru, 2012.

PALAMINI, K. F. **Avaliação de compostos benzodiazepínicos em amostras de urina por métodos de triagem toxicológica**. 2014. (Graduação em Química) – Centro Universitário Sagrado Coração, Bauru, 2014.

PASSAGLI, M. *et al.* **Toxicologia Forense: teoria e prática**. Campinas: Millenium, 2007.

PHILP, M.; FU, S. A review of chemical ‘spot’ tests: A presumptive illicit drug identification technique. *Drug testing and analysis*. v.10, n 1., Jan., p. 95-108, 2018.

**PSICOFARMACOLOGIA DE ANTIDEPRESSIVOS**. São Paulo: Revista Brasil Psiquiatra, 1999. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbp/a/XxBdP5vFDFbwBGDxrYPLCgC/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 03 out. 2022.

RAAMAN, F. G. Phytochemical Techniques. In: **Qualitative Phytochemical Screening**, New India Publishing: pp. 19-20. 2006.

SANTOS, G. A. S.; BOING, A. C. Mortalidade e internações hospitalares por intoxicações e reações adversas a medicamentos no Brasil: análise de 2000 a 2014. **Cad. Saúde Pública** [online] v. 34, n. 6, p. 2-14, 2018.

SILVA, P. **Farmacologia**. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

SILVA, L. L. R.. **Volumetria Ácido-base**. Disponível em: <https://www.ufjf.br/baccan/files/2011/05/Aula-3-Volumetria-%C3%81cido-Base-Parte-II.pdf>. Acesso em: 15 ago. 2022.

WAGNER, H; BLADT, S. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas**. 2 ed. Berlim: Springer, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (Geneva). **Basic Analytical toxicology**. [S. l.: s. n.], 1995. Disponível em: [https://www.who.int/ipcs/publications/training\\_poisons/analytical\\_toxicology.pdf](https://www.who.int/ipcs/publications/training_poisons/analytical_toxicology.pdf). Acesso em: 6 mar. 2022.