

**UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO**

**AMANDA BLAZ BUOSI  
BRUNA NAOMI DE MACEDO SAMPY**

**AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS  
ANTIDEPRESSIVOS TRICÍCLICOS EM  
AMOSTRA DE URINA POR MÉTODOS DE  
TRIAGEM TOXICOLÓGICA**

BAURU  
2013

**AMANDA BLAZ BUOSI  
BRUNA NAOMI DE MACEDO SAMPY**

**AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS  
ANTIDEPRESSIVOS TRICÍCLICOS EM  
AMOSTRA DE URINA POR MÉTODOS DE  
TRIAGEM TOXICOLÓGICA**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Centro de Ciências da  
Saúde, como parte do requisito para a  
obtenção do título de Farmacêutico, sob  
orientação do Prof<sup>o</sup> Me. Fernando Tozze  
Alves Neves.

BAURU

2013

B944a Buosi, Amanda Blaz

Avaliação de compostos antidepressivos tricíclicos em amostra de urina por métodos de triagem toxicológica / Amanda Blaz Buosi, Bruna Naomi de Macedo Sampy – 2013.  
38f. : il.

Orientador: Prof. Me. Fernando Tozze Alves Neves.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade do Sagrado Coração – Bauru – SP.

1. Antidepressivos tricíclicos. 2. Ensaio rápido. 3. Urina. 4. Cromatografia em camada delgada. I. Sampy, Bruna Naomi de Macedo. II. Neves, Fernando Tozze Alves. III. Título.

**AMANDA BLAZ BUOSI  
BRUNA NAOMI DE MACEDO SAMPY**

**AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS ANTIDEPRESSIVOS  
TRICÍCLICOS EM AMOSTRA DE URINA POR MÉTODOS DE  
TRIAGEM TOXICOLÓGICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências da Saúde como parte dos requisitos para a obtenção do título de farmacêutico, sob a orientação do Prof. Me. Fernando Tozze Alves Neves.

Banca Examinadora:

---

Prof. Me. Fernando Tozze Alves Neves  
Universidade Sagrado Coração

---

Prof. Dr. Marcelo Talascrêa  
Universidade do Sagrado Coração

---

Profa. Dr. Juliana Elaine Perobelli  
Universidade do Sagrado Coração

Bauru, 16 de Dezembro de 2013

## DEDICATÓRIA

Dedico primeiramente a Deus, pela oportunidade de estudar em uma instituição de ensino como a USC, e agora estar encerrando mais uma etapa tão importante da minha vida. Dedico aos meus pais, mas em especial a minha mãe, sem ela jamais teria chegado até aqui. Sua força, luta e determinação sempre foram espelhos para mim, assim como sua paciência, carinho e amor para comigo foram essenciais para jamais desistir do meu sonho que hoje se concretiza. Dedico a minha vó, sei que onde quer que ela esteja hoje, sempre torceu para que eu tivesse grande sucesso em minha carreira acadêmica. Dedico a minha família, que sempre esteve tão presente durante esse tempo de universidade, sem eles por perto, nada faria sentido. Eles foram meu maior alicerce. Dedico ao meu namorado que teve por sua vez uma importância tão grande neste momento, sempre me orientando a não perder o foco e a coragem.

Amanda Blaz Buosi

Dedico primeiramente a Deus, por ser presente em minha vida, por me fortalecer nos momentos difíceis e por me dar a oportunidade de concluir mais uma etapa em minha vida. Dedico aos meus pais, Edson e Jô, por serem exemplos de vida, de caráter, de honestidade, pela motivação, apoio e dedicação; sem vocês nada disso seria possível. Dedico ao meu irmão por todo amor, carinho, compreensão e por me motivar a seguir em frente. Aos meus familiares, em especial, minhas avós Edite e Kimiko (in memoria) por todo amor e carinho. Ao meu namorado Bruno pela companhia, amizade e compreensão.

Bruna Naomi de Macedo Sampy

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus, por me dar sabedoria, por me sustentar e me fortalecer nos momentos mais difíceis, por me dar oportunidade de viver e de realizar mais um sonho.

Aos meus pais, Edson e Jô, que nunca mediram esforços para me fazer feliz, que muitas vezes abriram mão dos seus sonhos para viver os meus, pelo apoio, pelo exemplo, amor e carinho durante toda a minha vida. Obrigada por acreditarem no meu potencial, nos meus ideais, principalmente quando nem eu mais acreditava.

Ao meu irmão Rafael pelo apoio, amor, paciência e compreensão.

Aos meus familiares que mesmo de longe, torceram e vibraram com as minhas vitórias.

Ao meu namorado Bruno, pela amizade, pelo amor, pela paciência, companheirismo, por entender a minha ausência em alguns momentos e por sonhar este sonho comigo.

Aos meus amigos, por toda motivação e pela amizade de todos esses anos.

As minhas companheiras de trabalho da Central de Atendimento, pelo apoio, motivação e por todo amor que recebi durante este percurso.

A minha amiga e autora do projeto, Amanda Blaz Buosi, pela amizade, companheirismo, paciência e motivação durante esses anos de muita vitória e dedicação. Obrigada por ser mais que uma amiga, por ser uma irmã para mim e por me dar a oportunidade de compartilhar grandes momentos ao teu lado!

Ao meu orientador, Fernando Tozze Alves Neves, por nos ajudar com seus ensinamentos, pela paciência, e por sempre colocar caminhos que no qual, poderíamos trilhar sem medo.

A nossa querida Marli, pela atenção, dedicação, colaboração e motivação. Adoro você!

Bruna Naomi de Macedo Sampy

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por ter me dado o dom da vida, por estar aqui hoje realizando um sonho, por ter sido sempre tão bom comigo, por nunca ter esquecido de olhar por mim e de atender as minhas preces.

Agradeço a minha mãe, que sempre soube me orientar para que eu crescesse cada vez mais nestes anos, que muitas vezes deixou de lado seus afazeres para me ajudar com os meus, que caminhou ao meu lado em todos os momentos por piores que eles foram, que me ajudou a nunca desistir, mesmo quando a vida colocou obstáculos dolorosos, que me ensinou a caminhar sempre pelo caminho de luz e de esperança, mesmo quando ele me pareceu tão difícil de ser enfrentado.

Agradeço a ela, que jamais se queixou de ouvir as minhas reclamações, que esteve sempre ali para dar colo, carinho e amor.

Agradeço a ela por ter me ensinado a criar meus próprios valores, para nunca deixar de lado meus princípios e para nunca abrir mão do meu caráter. Ela sempre será minha base, meu reflexo e meu maior tesouro.

Agradeço ao meu namorado pela paciência, pelo apoio, pelo carinho e pelo amor durante todo este percurso, sem ele, tudo teria sido muito mais difícil, ele que sempre soube me acalmar e me dar forças todas as vezes que eu achei que não seria capaz.

Agradeço as minhas amigas de graduação: Bruna Sampy, Camila Almeida, Carolina Duque, Heloisa Sampaio, Jéssica Ferraz, Jéssica Sanches, Letícia Polônio, Mariana Rosa, Monic Ferreira, Uly Schmidt, vocês com toda certeza acompanharam a minha trajetória e marcaram a minha História de uma maneira incrível, cada uma de vocês tem um lugar muito importante dentro do meu coração.

Agradeço ao meu orientador Prof. Me. Fernando Tozze Neves, por sua perspicácia, dedicação, atenção, compreensão e comprometimento com o nosso trabalho. E por principalmente ter acreditado que conseguiríamos obter grande sucesso.

Agradeço a farmacêutica Marli, pelo apoio, cuidado e carinho durante todo o nosso trabalho.

A todos vocês o meu muito obrigada, vocês fizeram e continuam fazendo grande diferença em minha vida.

Amanda Blaz Buosi

## RESUMO

A depressão é um transtorno de humor no qual a sensação de tristeza, pesar, raiva e frustração interfere na vida diária do indivíduo por um longo período. Diversas classes de medicamentos podem ser utilizadas na terapia farmacológica desta patologia, sendo que os antidepressivos tricíclicos representam a principal classe prescrita. Estes fármacos apresentam um elevado potencial tóxico principalmente nos quadros de tentativa de auto-extermínio onde o paciente utiliza altas doses dos medicamentos. Nestes casos torna-se importante a disponibilidade de análises toxicológicas rápidas que apresentam especificidade e sensibilidade para auxiliar a conduta clínica a ser adotada. Sendo assim, este trabalho tem como objetivo avaliar a sensibilidade e especificidade de métodos de triagem farmacológica em compostos antidepressivos tricíclicos. Para tanto foram utilizados os fármacos amitriptilina, clomipramina e imipramina para a realização de todos os ensaios. Nos ensaios rápidos de triagem os fármacos foram testados em diferentes concentrações 10, 1 e 0,1 ppm frente aos reativos químicos Dragendorff iodado, Forrest, FPN, Verde de Bromocresol e Bertrand. Nas análises cromatográficas em camada delgada os mesmos fármacos nas mesmas concentrações foram testados em um sistema solvente de metanol:hidróxido de amônio a 25% (100:1,5) frente aos reveladores cromatogênicos Dragendorff iodado, NaNO<sub>2</sub> 1%, Verde de Bromocresol e *p*-nitroanilina diazotada/hidróxido de sódio 50%. A partir das análises realizadas foi possível verificar que somente o reativo de Dragendorff apresentou sensibilidade e especificidade para os fármacos clomipramina e imipramina. Na avaliação cromatográfica foi possível verificar que as sequências de reveladores 1 e 2 apresentou seletividade para todos os fármacos devido as diferenças de R<sub>f</sub>, e sensibilidade principalmente para o fármaco imipramina. Sendo assim, consideramos que nos ensaios toxicológicos de triagem é necessária a combinação de análises para se obter uma melhor resposta analítica de forma a complementar o diagnóstico clínico.

**PALAVRAS CHAVE:** ANTIDEPRESSIVOS TRICÍCLICOS. URINA. ENSAIOS RÁPIDOS. CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA



## ABSTRACT

Depression is a mood disorder in which the feeling of sadness, grief, anger and frustration interfere with everyday life of the individual over a long period. Several classes of drugs can be used in the pharmacological therapy of this disease, and tricyclic antidepressants represent the main prescribed class. These drugs have a high potential toxic especially in cases of attempted self-annihilation where the patient uses high doses of drugs. In these cases it is important the availability of rapid toxicological analysis that shows specificity and sensitivity to assist the clinical approach to be adopted. Thus, this study aims to assess the sensitivity and specificity of pharmacological methods of screening compounds tricyclic antidepressants. For both drugs amitriptyline, clomipramine and imipramine to perform all assays were used. In the rapid screening assays drugs were tested at different concentrations of 10, 1 and 0.1 ppm chemical reactive against iodinated Dragendorff, Forrest, FPN, bromocresol green and Bertrand. In the thin-layer chromatographic analyzes the same drug at the same concentration was tested in a solvent system of methanol: ammonium hydroxide 25% (100:1,5) against chromogenic developers iodinated Dragendorff, NaNO<sub>2</sub> 1% bromocresol green and diazotized *p*- nitroaniline/sodium hydroxide 50%. From rapid tests it was possible to verify that only Dragendorff reagent had a sensitivity and specificity for clomipramine and imipramine drugs. In chromatographic evaluation was possible to verify that the sequences revealing 1 and 2 showed selectivity for all drugs due to differences in R<sub>f</sub>, and sensitivity mainly for imipramine. Since we consider that the toxicological screening assays combination of analyzes to obtain better analytical response to complement the clinical diagnosis is required.

**KEY WORDS:** TRICYCLIC ANTIDEPRESSIVE. URINE. RAPID TEST. THIN LAYER CHROMATOGRAPHY

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b>	Concentrações utilizadas nos testes com os reativos químicos na triagem toxicológica.	21
<b>Figura 2</b>	Aplicação das amostras da placa cromatográfica	22
<b>Figura 3</b>	Resultados colorimétricos obtidos no teste de sensibilidade e especificidade dos reativos para o fármaco amitriptilina.	25
<b>Figura 4</b>	Resultados colorimétricos obtidos no teste de sensibilidade e especificidade dos reativos para o fármaco clomipramina.	26
<b>Figura 5</b>	Resultados colorimétricos obtidos no teste de sensibilidade e especificidade dos reativos para o fármaco imipramina.	27
<b>Figura 6</b>	Análise cromatográfica do padrão de amitriptilina.	28
<b>Figura 7</b>	Análise cromatográfica da amostra de amitriptilina nas concentrações de 10 e 20 ppm.	29
<b>Figura 8</b>	Análise cromatográfica da amostra de amitriptilina nas concentrações de 1,0 e 0,1 ppm.	29
<b>Figura 9</b>	Análise cromatográfica do padrão de clomipramina nas concentrações de 100, 20, 10, 1,0 e 0,1 ppm.	30
<b>Figura 10</b>	Análise cromatográfica do padrão de clomipramina nas concentrações de 100, 20, 10, 1,0 e 0,1 ppm.	30
<b>Figura 11</b>	Análise cromatográfica da amostra de imipramina nas concentrações de 100, 20, 10, 1,0 e 0,1 ppm.	31
<b>Figura 12</b>	Análise cromatográfica da amostra de imipramina nas concentrações de 1,0 e 0,1 ppm.	32
<b>Figura 13</b>	Análise cromatográfica da amostra de imipramina na concentração de 10 ppm.	32

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1</b>	Resultados obtidos no teste de sensibilidade e especificidade dos reativos para o fármaco amitriptilina.	26
<b>Tabela 2</b>	Resultados obtidos no teste de sensibilidade e especificidade dos reativos para o fármaco clomipramina.	27
<b>Tabela 3</b>	Resultados obtidos no teste de sensibilidade e especificidade dos reativos para o fármaco imipramina.	27

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2 DESENVOLVIMENTO .....</b>	<b>14</b>
2.1 ASPECTOS QUÍMICO-FARMACOLÓGICOS DOS ANTIDEPRESSIVOS .....	14
2.2 ASPECTOS TOXICOLÓGICOS DOS ANTIDEPRESSIVOS .....	15
2.3 ANÁLISES TOXICOLÓGICAS EM TRIAGEM DE FÁRMACOS..	16
2.4 TESTES IMEDIATOS .....	17
2.5 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA .....	17
<b>3 OBJETIVO .....</b>	<b>20</b>
3.1 OBJETIVO GERAL.....	20
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	20
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>21</b>
4.1 MATERIAIS .....	21
4.2 MÉTODOS .....	23
4.2.1 Teste com reativos químicos .....	23
4.2.2 Teste de cromatografia .....	24
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>27</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>36</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>37</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Conforme Moreno; Moreno; Soares (1999) a depressão é um transtorno de humor no qual a sensação de tristeza, pesar, raiva e frustração interfere na vida diária do indivíduo por um longo período. Atualmente a doença pode ser tratada por medicamentos que aliviam os sintomas característicos.

Nas últimas décadas, com a evolução da doença, os antidepressivos também foram evoluindo o que gerou uma melhoria no quadro clínico do paciente em tratamento e diminuiu também os efeitos colaterais indesejáveis. A nova geração de antidepressivos é constituída por medicamentos que agem em um único neurotransmissor ou em múltiplos neurotransmissores sem ter como alvo outros sítios receptores cerebrais não relacionados com a depressão, o que gerava os efeitos colaterais indesejáveis (MORENO; MORENO; SOARES, 1999).

As primeiras classes de antidepressivos que surgiram no mercado foram descobertas através de observação clínica. São eles: os antidepressivos inibidores da monaminoxidase (IMAOs) e os antidepressivos tricíclicos (ADT). Ambos eram eficazes, porém, causavam efeitos colaterais indesejáveis o que inspirou a descoberta de novas classes deste medicamento a descoberta de novas (LULLMANN; MOHR, 2010).

Atualmente, os derivados tricíclicos como a imipramina, desipramina, amitriptilina, nortriptilina e doxepina constituem o grupo de medicamentos mais utilizados no tratamento de depressão. Porém, estes medicamentos também são usados no tratamento de pacientes em abstinência de cocaína, enxaqueca, entre outras doenças. Os principais medicamentos dessa classe são: a imipramina e amitriptilina (MOHR; LULLMANN, 2010).

Segundo Amaral e Collares (2006), comparado com os medicamentos inibidores da monoamino-oxidase (IMAO), os medicamentos derivados tricíclicos são mais eficazes e menos tóxicos, o que explica a primeira opção de tratamento. Antigamente essa classe estava relacionada com poucos casos de intoxicação, porém, devido ao baixo custo em relação aos outros medicamentos e também devido a grande indicação por meio dos médicos gerou um aumento nos casos de intoxicação por antidepressivos tricíclicos.

Os medicamentos desta classe agem no sistema nervoso central e periférico bloqueando os sítios dos receptores de dopamina e inibindo a recaptura de norepinefrina e serotonina tendo como consequência o aumento da concentração dos

neurotransmissores na fenda. Interferem na condução nervosa pelo bloqueio dos canais de sódios quando em altas concentrações. Sendo assim, a principal causa de óbitos por essa classe é devido á toxicidade cardíaca, diminuindo a condução elétrica cardíaca, bloqueio dos receptores muscarínicos e alfa-adrenérgico que irá induzir a vasodilatação, entre outros (MOHR; LULLMANN, 2010).

Desta forma, na área de toxicologia analítica, faz-se necessária a utilização de ensaios de triagem para a determinação qualitativa de fármacos antidepressivos em fluidos biológicos. Os ensaios empregados para esta classe de medicamentos são: os exames rápidos de identificação (teste em tubo de ensaio) e Cromatografia em Camada Delgada (CCD) (AMARAL; COLLARES, 2006).

Ambas as técnicas apresentam variações quanto à sensibilidade e especificidade aos diferentes tipos de fármacos da classe dos ADT, sendo necessário o conhecimento das características a serem visualizadas após a realização dos testes para favorecer a elaboração de um laudo toxicológico que seja fidedigno ao caso de intoxicação (AMARAL; COLLARES, 2006).

Desta forma, o desenvolvimento e avaliação dos métodos de análise toxicológica para ADT é importante e essencial para um resultado preciso e para elaborar um laudo toxicológico confiável para os casos de intoxicação, pois cada vez mais cresce o número de dependentes desta classe de medicamentos assim como o número de intoxicações.

## 2 DESENVOLVIMENTO

### 2.1 ASPECTOS QUÍMICO-FARMACOLÓGICOS DOS ANTIDEPRESSIVOS

Os antidepressivos tricíclicos (ADT) resultam da modificação do núcleo fenotiazínico. A imipramina é considerada o primeiro e o principal fármaco desta classe, possuindo uma estrutura semelhante à da clorpromazina, sendo o enxofre dessa substituído por uma ponte etilênica. Portanto, a diferença estrutural encontra-se no ciclo mediano e as cadeias laterais de ambas são idênticas (SCIPPA; OLIVEIRA, 2010).

Devido ao fato de apresentarem semelhança estrutural com a classe dos antipsicóticos fenotiazínicos, considera-se que a atividade antidepressiva está relacionada com a estrutura do fármaco, dependendo essencialmente do núcleo tricíclico, da cadeia lateral e da natureza do grupo amínico básico. Entretanto, quimicamente algumas diferenças entre estas duas classes devem ser consideradas, tais como: os ADT apresentam um anel central do sistema tricíclico com sete a oito átomos, promovendo uma configuração com maior angulação do que os antipsicóticos, a atividade antidepressiva nos ADT pode ocorrer mesmo com a presença de apenas dois átomos de carbono na cadeia lateral e o grupo amínico nos antidepressivos é frequentemente secundário e não exclusivamente terciário como no caso dos antipsicóticos (KOROLKOVAS; BURCKHALTER, 1988).

As aminas terciárias, como a amitriptilina, a clomipramina e a imipramina, em geral são potentes inibidores da recaptação de serotonina (5HT), enquanto que as aminas secundárias, tais como a desipramina, nortriptilina e protriptilina, são mais potentes bloqueadores da recaptação da noradrenalina (NA). Entretanto, na prática clínica tal distinção apresenta pequena relevância, uma vez que as aminas terciárias são desmetiladas em aminas secundárias, ocorrendo desta forma uma inibição da recaptação de ambos os tipos de neurotransmissores (SCIPPA; OLIVEIRA, 2010).

Os ADT são compostos lipossolúveis e apresentam uma rápida e completa absorção intestinal por via oral, alta ligação a proteína plasmática (75 a 97%), principalmente a alfa-1-glicoproteína-ácida, entretanto a sua biodisponibilidade é reduzida. Tal fato é relacionado ao efeito de primeira passagem (tanto no trato gastrointestinal como no fígado). Os processos de biotransformação podem gerar metabólitos com maior ou menor atividade do que o composto original, ou ainda podem ser inativos. (HARDMAN; LIMBIRD, 2003).

O tempo de meia-vida é de 20 a 30 horas, sendo que, o equilíbrio plasmático é alcançado depois de cinco meias-vidas, o que ocorre aproximadamente após uma semana de administração ininterrupta do fármaco. Após a biotransformação estes fármacos são excretados principalmente pela via renal na forma de metabólitos hidrossolúveis conjugados com ácido glicurônico e em menor proporção na forma inalterada. Nos casos de intoxicação, a proporção de excreção na forma inalterada se encontra elevada devido a processo de saturação da etapa de biotransformação (SCIPPA; OLIVEIRA, 2010).

## 2.2 ASPECTOS TOXICOLÓGICOS DOS ANTIDEPRESSIVOS

As intoxicações por antidepressivos tricíclicos (ADT) são frequentes e consideradas graves. Nos Estados Unidos (EUA) representa a principal causa de morte por medicamentos, enquanto que, no Brasil está entre os três principais medicamentos que levam a intoxicação aguda, principalmente nos casos de tentativa de auto-extermínio (FILHO; TAVARES; OLIVEIRA, 2001).

Segundo Ramchandani et al. (2000) e Matsika et al. (2004) a associação frequente às tentativas de suicídio está relacionado ao uso por pacientes que apresentam um risco aumentado de ideação suicida. Cerca de 90 % das internações por intoxicações devem-se às tentativas de suicídio, sendo que destas, cerca de 20% são por antidepressivos. Das internações ocorridas por ingestão por 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.

Além dos ADT outras classes de medicamentos que são normalmente utilizadas em tentativas de auto-extermínio são benzodiazepínicos e antipsicóticos. Tais medicamentos, como os ADTs, apresentam um efeito depressor no sistema nervoso central quando em doses tóxicas (FERNANDES, 2006).

Os ADT podem ser perigosos quanto utilizados em quantidades excessivas, sendo frequentemente mortais com doses elevadas e na ausência de tratamento precoce. Os principais efeitos adversos causados por este grupo de fármacos está associado ao aparecimento de sintomas no Sistema Nervoso Autônomo (efeitos anticolinérgicos), Sistema Nervoso Central, Sistema Cardiovascular e na pele (SCIPPA; OLIVEIRA, 2010).



Devido a esta ampla atividade em diversos sistemas orgânicos, as intoxicações por antidepressivos tricíclicos apresentam vários sinais e sintomas clínicos importantes, sendo que o Sistema Nervoso Central e o Cardiovascular apresentam importância nos desfechos clínicos de maior gravidade (FILHO; TAVARES; OLIVEIRA, 2001).

Além do principal efeito farmacológico em bloquear a captação de aminas biogênicas (noradrenalina e serotonina) nas terminações nervosas através da competição pelo sítio de ligação da proteína transportadora, os ADT também atuam em outros receptores como os muscarínicos da acetilcolina e receptores de histamina (RANG; DALE; RITTER, 2001). Desta forma, devido a esta ação não seletiva promovem diversos efeitos indesejados como xerostomia, constipação intestinal, retenção urinária, depressão respiratória, taquicardia sinusal, midríase, visão turva, agitação e convulsões decorrentes do bloqueio muscarínico, anticolinérgico. Já o bloqueio dos receptores alfa-adrenérgicos induz a hipotensão postural, enquanto que a sedação está relacionada como bloqueio de receptores histaminérgicos (NEWTON; SHIH; HOFFMAN, 1994)

Existe também um efeito relacionado à ação sobre canais de sódio da fibra miocárdica, responsável por uma ação anestésica local no músculo cardíaco e por alterações eletrocardiográficas como prolongamento do QRS, e dos intervalos QT e PR, quando em doses mais elevadas (HARDMAN; LIMBIRD, 2003).

A ingestão de doses maiores que 20 mg/kg são consideradas potencialmente fatais, mas a evolução do quadro clínico do paciente intoxicado por ADT não depende unicamente da dose ingerida, sendo também importante a considerar durante a anamnese clínica a idade do paciente, o uso concomitante com outros medicamentos e, principalmente, a existência prévia de doença cardíaca (FILHO; TAVARES; OLIVEIRA, 2001).

### 2.3 ANÁLISES TOXICOLÓGICAS EM TRIAGEM DE FÁRMACOS

As intoxicações agudas são responsáveis por grande parte dos atendimentos de urgência e emergência, assim como das internações em terapia intensiva devido ao uso e abuso de medicamentos e drogas ilícitas (GANDOLFI; ANDRADE, 2006).

Em alguns casos quando há forte suspeita de superdosagem de fármacos considerados desconhecidos ou quando as informações relativas a intoxicação são insuficientes para permitir ao médico um diagnóstico preciso e seguro, o emprego das análises toxicológicas apresenta um papel importante de forma a auxiliar na decisão

sobre um diagnóstico clínico mais definitivo e conseqüentemente o tratamento adequado a intoxicação (MOREAU, 2011).

A urina representa o fluido biológico extensamente utilizado em análises toxicológicas, pois uma das matrizes com menor número de interferentes endógenos, uma vez que é constituída principalmente por água e somente apresenta níveis significativos de proteínas e lipídios em estados patológicos (BLANKE; POKLIS, 1996).

Sendo assim, a urina é a amostra de escolha para os métodos de triagem de fármacos em casos de intoxicação aguda, principalmente por ser de fácil coleta, estar disponível em grande volume, e geralmente a concentração da maioria das substâncias pesquisadas é maior do que a encontrada no soro. Entretanto o resultado dos métodos de triagem toxicológica, que apresentam como caráter fundamental a análise qualitativa, devem ser compreendidos no contexto de que a identificação de um fármaco ou de seu produto de biotransformação na urina indica somente a exposição a substância em questão, e não se correlaciona necessariamente com a condição do paciente no momento da coleta (MOREAU, 2011).

#### 2.4 TESTES IMEDIATOS

Segundo Moreira; Caldas (2001) um grande número de substâncias quando em contato com certos agentes químicos reagem dando cores distintas. Muitas vezes, as reações coloridas com determinado reagente são usadas não apenas para classificar o método como positivo ou negativo, mas para muitos compostos em determinada classe química. Estes testes são chamados de “Testes Gerais de Análise”, sendo utilizados com guia preliminar pela natureza da substância que se quer identificar. Outros tipos de testes são denominados de “Testes Especiais de Análise”, os quais apresentam diferenciam na formação da coloração no teste para cada tipo de composto investigado.

#### 2.5 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

A cromatografia envolve um grupo de métodos para separar misturas moleculares que dependem de afinidades diferenciais dos solutos entre duas fases não-miscíveis (BAILEY, 2004).

A Cromatografia em camada delgada (CCD) é uma técnica cromatográfica usada para separar compostos em uma determinada mistura. Pode ser realizada sobre uma placa de vidro, plástico ou folha de alumínio (cromatoplaça), revestida com uma fina camada de material adsorvente, a qual é denominada fase estacionária. Diversos compostos podem ser utilizados como fase estacionária, sendo que, na CCD a sílica gel é o material de escolha. É na fase estacionária que a amostra é aplicada para posteriormente sofrer a separação de seus constituintes (MOREAU, 2011; GONZÁLEZ; DA SILVA, 2005).

A outra fase é a móvel, representada por um solvente ou mistura de solventes. A escolha desta fase está diretamente relacionada com as características da amostra a ser utilizada. Normalmente esta escolha é realizada de acordo com as características de afinidade e polaridade dos solventes e dos constituintes da amostra (LINDEN et al., 2007).

Após a definição das fases estacionária e móvel, a placa é submetida ao processo de eluição do solvente sobre a superfície da placa, em ambiente fechado (cuba cromatográfica), a qual permite o arraste e separação dos diferentes constituintes da amostra (MOREAU, 2011).

De modo geral, a CCD pode ser utilizada para separar compostos de uma mistura ou ainda para verificar o grau de pureza de uma amostra devido a presença de agentes contaminantes, o que representa um direcionamento analítico qualitativo ou semi-preparativo para uma posterior análise quantitativa (PASSAGLI, 2007).

Na área da toxicologia analítica, a CCD representa uma importante ferramenta para identificação de substâncias devido à sua velocidade, confiabilidade e baixo custo, sendo amplamente utilizada em testes de triagem em casos de intoxicação. De forma complementar a separação dos compostos, através das diferenças de arraste das substâncias na fase estacionária a aplicação de diferentes reagentes cromogênicos proporciona a obtenção de dados adicionais como um prévio direcionamento dos tipos de grupos ou compostos químicos presentes na amostra (LINDEN et al. , 2007).

O parâmetro de identificação usual em CCD é o fator de retenção ( $R_f$ ), o qual é freqüentemente expresso multiplicado por 10. Os valores de  $R_f$  são influenciados por diversos fatores, tais como temperatura e umidade ambiental, tamanho da placa, saturação da cuba cromatográfica e quantidade de amostra aplicada (MOREAU, 2011).

O  $R_f$  é obtido ao analisar uma amostra da substância desconhecida, em qualquer um dos sistemas de CCD propostos, juntamente com o conjunto adequado de

marcadores ou padrões. A partir dos valores obtidos de  $R_f$  para a substância desconhecida e para os marcadores ou padrões realiza-se a comparação de deslocamento das substâncias para posterior confirmação da presença ou ausência da substância pesquisada no fluido biológico (MORAES; SZNELWAR; FERNICOLA, 1991).

Diferentemente dos outros métodos cromatográficos que utilizam detectores, na CCD a identificação dos compostos é realizada por meio de reveladores ou reativos químicos. Estes produtos químicos são utilizados para promover uma melhor visualização dos compostos separados na CCD por meio de reação químicas que foram cores ou ainda apresentam fluorescência, sendo que, neste caso faz-se necessário o uso de câmaras de revelação com luz com comprimentos de onda específicos (LINDEN et al., 2007).

Os reveladores normalmente são aplicados através de spray de reagentes adequados (MORAES; SZNELWAR; FERNICOLA, 1991).

Desta forma, a CCD pode ser considerada um método de triagem toxicológica utilizada de forma auxiliar no diagnóstico clínico de intoxicações por medicamentos por apresentar algumas características favoráveis, tais como, rápida e fácil execução, abrangente e de baixo custo (AMÉRICO; MOSSIN; NISHIYAMA, 2008; AZEREDO et al., 2004).

Nos atendimentos de urgência à pacientes acometidos pelo histórico de exposição tóxica por medicamentos, o tempo de tomada de decisão é crucial para cura ou melhoria do quadro clínico. Esses eventos geralmente envolvem o contato com compostos de natureza desconhecida o que torna uma grande desafio identificar o agente ou agentes responsáveis pela intoxicação. Nesse sentido a cromatografia, destaca-se por ser um método físico químico de separação, portanto útil, para analisar, identificar e/ou separar os componentes de um mistura em amostras biológicas (KARP, 2005).

### **3 OBJETIVO**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar a presença de compostos antidepressivos tricíclicos em amostra de urina por métodos de triagem toxicológica.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Identificar os reagentes químicos mais adequados para os testes de triagem toxicológica em urina contendo compostos antidepressivos tricíclicos
- Avaliar a sensibilidade dos testes com reativos químicos para as amostras de urina contendo os compostos antidepressivos tricíclicos
- Avaliar a especificidade dos testes com reativos químicos para as amostras de urina contendo os compostos antidepressivos tricíclicos
- Avaliar a sensibilidade do método de cromatografia em camada delgada para as amostras de urina contendo os compostos antidepressivos tricíclicos
- Avaliar a especificidade do método de cromatografia em camada delgada para as amostras de urina contendo os compostos antidepressivos tricíclicos

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAIS

Os materiais utilizados para o desenvolvimento dos métodos analíticos testados foram:

- A) Vidrarias: balões volumétricos, béqueres, bastões de vidro, funil de separação, funil analítico, pipetas volumétricas e graduadas, provetas graduadas, cuba cromatográfica.
- B) Equipamentos: balanças analíticas (SARTORIUS; MARTE/BL210S; AL500), agitador magnético com aquecimento (TECNAL/TE-0851), agitador de tubos (IKA) e banho de ultrassom (UNIQUE/ULTRA CLEANER 1400).
- C) Fármacos: Amitriptilina, clomipramina e imipramina.
- D) Outros materiais: fitas de pH (MACHERY-NAGEL), pipetador automático (KACIL), ponteiras, placa de sílica gel 60 (MACHERY-NAGEL).
- E) Reagentes:
  - Nitrato de bismuto (NEON)
  - Ácido acético (DINÂMICA)
  - Iodeto de potássio (NEON)
  - Verde de bromocresol
  - Ácido sílico-túngstico (VETEC)
  - Cloreto férrico (PRODUCTA)
  - Ácido Perclórico
  - Ácido Nítrico (NEON)
  - Ácido Clorídrico (CAAL)
  - Hidróxido Sódio (CINÉTICA)
  - Dicromato de potássio
  - Ácido Sulfúrico (QHEMIS)
  - 4-nitroanilina P.A (DINÂMICA)
  - Nitrito de sódio
  - Clorofórmio (QHEMIS)
  - Sulfato de Sódio Anidro (DINÂMICA)
  - Metanol (DINÂMICA)
  - Hidróxido de Amônia (DINÂMICA)

Os reagentes utilizados foram (MOREIRA; CALDAS, 2001):

**a) REATIVO DE DRAGENDORFF:**

Para a preparação de 50 mL do Reativo de Dragendorff (DRG) foram previamente preparadas as soluções 1 e 2. Na solução 1 foram pesados 1,7g de Nitrato de Bismuto básico e diluídos em 100 mL de ácido acético a 20%. Na solução 2 foram pesados 40g de Iodeto de Potássio e diluídos em 100 mL de água destilada.

A solução final do Reativo de Dragendorff (DRG) foi preparada imediatamente antes de ser usada, misturando-se 40g da solução 1 com 10mL da solução 2.

**b) REATIVO DE VERDE DE BROMOCRESOL (VBC)**

Para a preparação do reativo de Verde de Bromocresol (VCB) foram pesados 0,1g de verde de bromocresol e diluí-se com água destilada até 100 mL, obtendo-se uma concentração final de 0,1%.

**c) REATIVO DE BERTRAND**

Para a preparação do reativo de Bertrand foram pesados 120g de ácido sílico-túngstico ( $\text{SiO}_2 \cdot 12\text{WO}_3 \cdot 26\text{H}_2\text{O}$ ) e diluído em água destilada até um litro, obtendo-se uma concentração final de 12%.

**d) REATIVO DE FPN**

Para a preparação do reativo de FPN foram misturados 5 mL de cloreto férrico 5% em água (p/p) com 45 mL de ácido perclórico 20% (p/p) em água com 50 mL de ácido nítrico 50% (p/p) em água.

**e) REATIVO DE FORREST**

Para a preparação do reativo FORREST foram misturar 25 mL de uma solução aquosa de dicromato de potássio 0,2% com 25 mL de ácido sulfúrico 30% com 25 mL de ácido perclórico 20% (p/p) com 25 mL de ácido nítrico (p/p).

## 4.2 MÉTODOS

### 4.2.1 Teste com reativos químicos

Para a avaliação dos parâmetros de sensibilidade e especificidade dos reativos químicos utilizados em análise de triagem toxicológica, foram preparadas concentrações conhecidas dos compostos antidepressivos tricíclicos em amostras de urina (Figura 1).

Composto antidepressivo tricíclico	Concentrações em ppm (mg/mL)		
	C1	C2	C3
Amitriptilina	10	1	0,1
Clomipramina			
Imipramina			

Figura 1 - Concentrações utilizadas nos testes com os reativos químicos na triagem toxicológica.  
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

No preparo da C1 foram pesados individualmente 0,010 g dos compostos antidepressivos tricíclicos em tubos de ensaio e adicionados volumetricamente 10 mL de urina, obtendo-se assim uma concentração final de 10 mg/mL.

A partir da concentração C1 obtida, foi realizada uma diluição, transferindo-se volumetricamente 1 ml para outro tubo de ensaio, completando-se o volume para 10 mL com a urina, obtendo assim uma concentração final de 1 mg/mL (C2).

A partir da concentração C2 foi realizada uma diluição, transferindo-se volumetricamente 1 ml para outro tubo de ensaio, completando-se o volume para 10 mL com a urina, obtendo assim uma concentração final de 0,1 mg/mL.

Após o preparo das concentrações C1, C2 e C3 foram transferidos volumetricamente 1,0 ml destas concentrações obtidas para outros tubos de ensaio para a realização dos ensaios de sensibilidade e especificidade dos reativos químicos.

### 4.2.2 Teste de cromatografia

#### 4.2.2.1 Preparo das soluções padrões

Para a realização dos testes em cromatografia em camada delgada foram utilizados os padrões dos fármacos antidepressivos tricíclicos: amitriptilina, clomipramina e imipramina.



Foram pesados exatamente 10 mg de cada fármaco e diluídos com metanol para as concentrações de 100, 20, 10, 1 e 0,1 ppm (mg/L). Posteriormente todas as concentrações foram levadas a evaporação total do solvente em capela e ressuspensas com 1 mL de metanol para a aplicação nas placas.

#### 4.2.2.2 Padronização da análise cromatográfica

As cromatoplasas de sílica gel 60 foram aquecidas a 105°C durante 30 minutos para ativação. Posteriormente 30 µl de cada padrão dos fármacos foram aplicados separadamente na placa cromatográfica (Figura 1) e colocados para eluição em cuba cromatográfica (previamente saturada durante 15 minutos) contendo a mistura de solventes metanol:hidróxido de amônia a 25% (100:1,5), percorrendo uma distância máxima de 10 cm.

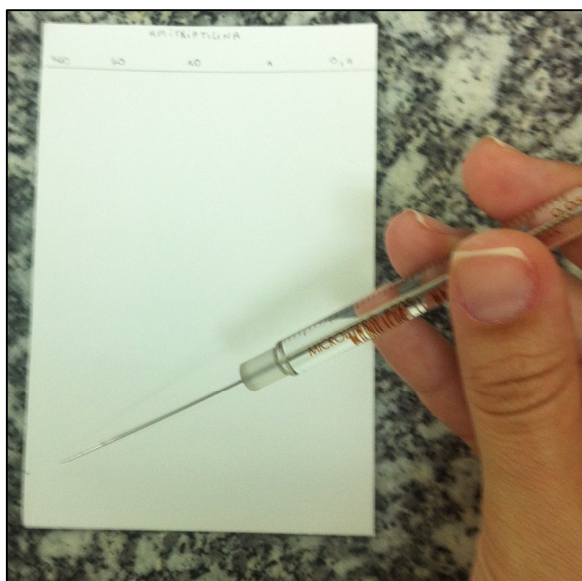


Figura 2 – Aplicação das amostras na placa cromatográfica.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Após o término da corrida do solvente, a placa foi levada a capela para favorecer a evaporação dos solventes residuais e posteriormente foram aplicados os reativos cromatogênicos. Os reativos cromatogênicos foram aplicados na sequência abaixo para todos os fármacos (MORAES; SZNELWAR; FERNICOLA, 1991):

#### # Sequência 1:

Draggendorf iodado (DI) ➡ Nitrito de sódio ➡ Draggendorf iodado (DI)

# *Sequência 2:*

Verde Bromocresol (BCV)  $\longrightarrow$  p-nitroalunina diazotada ( $D_{c_{pn}}$ )

Após a revelação dos fármacos com os reativos cromatogênicos, foi realizado o cálculo do  $R_f$ . Este procedimento foi realizado para identificar previamente o tipo de coloração a ser formada na reação entre cada fármaco padrão utilizado e os reativos cromatogênicos, assim como a determinação distância percorrida na cromatoplaça como base para o cálculo do  $R_f$ .

4.2.2.3 *Extração líquido-líquido para a análise sensibilidade e especificidade dos fenotiazínicos*

Para a realização dos testes de sensibilidade e especificidade dos reativos cromatogênicos inicialmente foram pesados 10 mg dos fármacos padrões e diluídos para as concentrações de 10, 1 e 0,1 ppm (mg/L) com urina.

Para a realização da pesquisa de compostos orgânicos em fluido biológico (urina) foi utilizada uma metodologia adaptada de Moraes; Sznelwar; Fernicola (1991) e Moreau (2011). Os procedimentos foram realizados para todas as concentrações dos padrões adicionados à amostra dos fármacos amitriptilina, clomipramina e imipramina.

A partir das concentrações obtidas nas diluições de cada fármaco, foram transferidos separadamente alíquotas 5 mL para funis de separação. Posteriormente foi verificado o pH da urina, ajustando para a faixa de 4,0 a 5,0 com  $H_2SO_4$  90%. Após este ajuste foi utilizado o volume de 10 mL de clorofórmio para a realização do processo de extração líquido-líquido, agitando-se o funil durante 30 segundos em movimento rotatórios contínuos.

Após decorrido os 30 segundos o funil foi colocado em repouso para a separação completa da fases, sendo realizado em seguida a filtração por meio de papel de filtro contendo sulfato de sódio anidro. A fase clorofórmica foi recolhida em béquer para posterior análise. O procedimento de adição de clorofórmio, agitação, separação e filtração foi repetido mais 2x da mesma forma, para se otimizar o processo de extração dos fármacos, sendo o filtrado recolhido no mesmo béquer da primeira extração.

Após o recolhimento dos três filtrados, o béquer foi levado a capela para evaporação total do solvente.

Para dar prosseguimento as análises, a urina foi alcalinizada com NaOH 50%, ajustando para a faixa de 9,0 a 10,0. Os procedimentos de adição de clorofórmio, agitação, separação e filtração já citados anteriormente foram realizados na mesma proporção, sendo recolhido o filtrado em um segundo béquer.

Após o recolhimento dos três filtrados, este segundo béquer também foi levado a capela para evaporação total do solvente.

Após total evaporação dos solventes, foi utilizado 1 mL de metanol para a ressuspender as amostras. Para a aplicação das amostras na cromatoplasca de sílica gel 60, foram utilizados 30 µl de cada amostra separadamente.

Após a aplicação as cromatoplascas foram colocadas para eluição em cuba cromatográfica contendo a mistura de solventes metanol:hidróxido de amônia a 25% (100:1,5), percorrendo uma distância máxima de 10 cm. Após o término da corrida do solvente, a placa foi levada a capela para favorecer a evaporação dos solventes residuais e posteriormente foram aplicados os reativos cromatogênicos.

Os reativos cromatogênicos foram aplicados conforme as sequências abaixo para todos os fármacos (MORAES; SZNELWAR; FERNICOLA, 1991):

# *Sequência 1:*

Draggendorf iodado (DI) ➡ Nitrito de sódio ➡ Draggendorf iodado (DI)

# *Sequência 2:*

Verde Bromocresol (BCV) ➡ p-nitroalunina diazotada (DC<sub>pn</sub>)

Após a revelação dos fármacos com os reativos cromatogênicos, foi realizado o cálculo do R<sub>f</sub>. Após término deste procedimento foi realizada a comparação entre as manchas obtidas nas aplicações das soluções padrão dos fármacos com as manchas obtidas após o processo de extração líquido-líquido.

A sensibilidade dos reativos foi verificada quanto a capacidade de formação de manchas coloridas nas cromatoplascas que representaram a presença do fármaco pesquisado. Já a avaliação da especificidade foi verificada quanto a formação de coloração diferenciada para cada tipo de fármaco em relação aos reativos cromatogênicos utilizados e o valores de R<sub>f</sub> obtidos.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

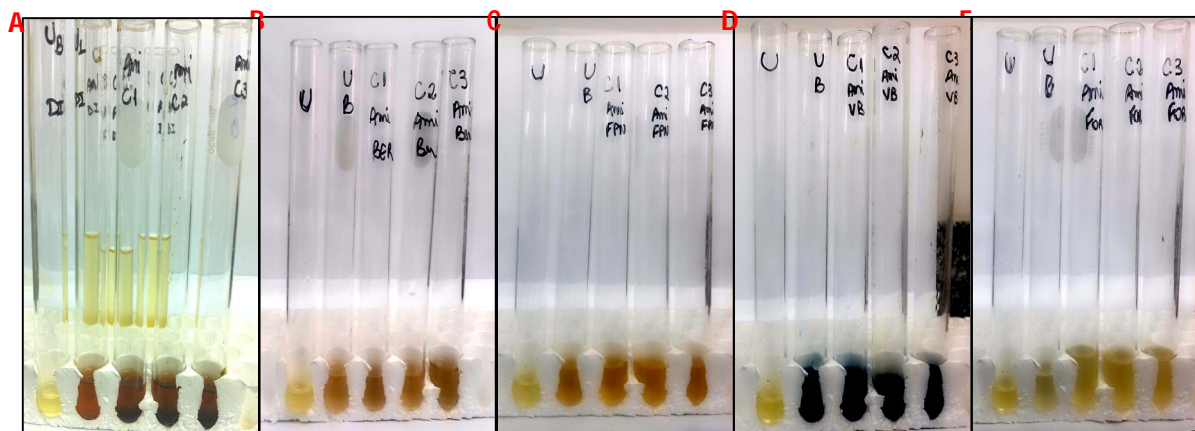
Na análise de sensibilidade dos reativos para o fármaco amitriptilina, foi possível verificar que nenhum dos reativos químicos testados apresentou diferença quando comparados ao branco de reativos (Tabela 1).

**Tabela 1 – Resultados obtidos no teste de sensibilidade e especificidade dos reativos para o fármaco amitriptilina.**

Concentrações	Dragendorff	Bertrand	FPN	Verde de bromocresol	FORREST
10 ppm	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
1 ppm	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
0,1 ppm	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Fonte: elaborado pelo autor.

Conforme Figura 3 foi verificado que as colorações formadas nas três concentrações analisadas para o fármaco amitriptilina não apresentaram diferenças de tonalidades ou turvação quando comparadas ao branco de reativos.



**Figura 3 – Resultados colorimétricos obtidos no teste de sensibilidade e especificidade dos reativos para o fármaco amitriptilina.**

Legenda: A: Dragendorff/ B: Bertrand/ C: FPN/ D: Verde de Bromocresol/ E: Forrest

Fonte: elaborado pelo autor.

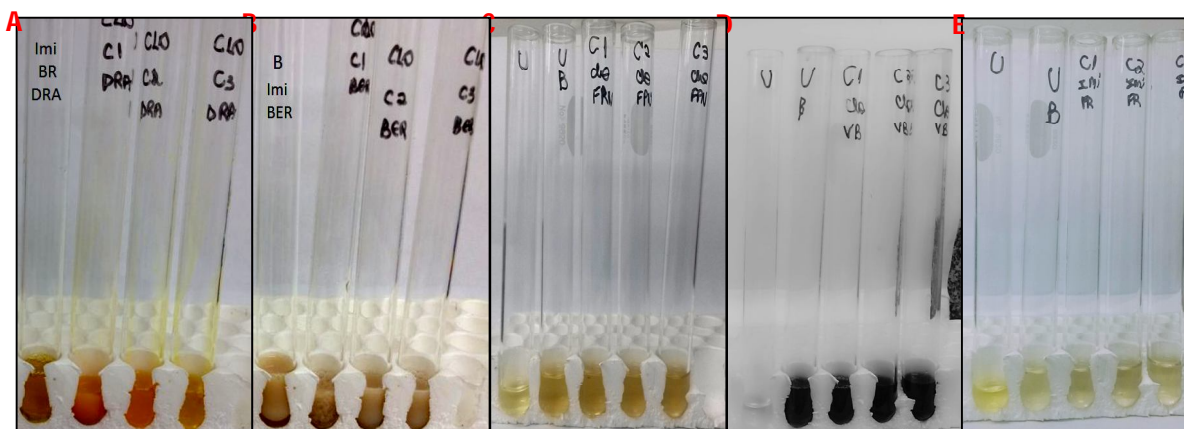
Na análise de sensibilidade dos reativos para o fármaco clomipramina, foi possível verificar que somente o reativo de DRAGENDORFF apresentou reação positiva para a identificação do fármaco na urina em nas concentrações de 10 e 1,0 ppm (Tabela 2).

**Tabela 2 – Resultados obtidos no teste de sensibilidade e especificidade dos reativos para o fármaco clomipramina.**

Concentrações	Dragendorff	Bertrand	FPN	Verde de bromocresol	Forrest
<b>10 ppm</b>	Positivo Alaranjado	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>1,0 ppm</b>	Positivo Alaranjado	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>0,1 ppm</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Fonte: Elaborado pelo autor

Conforme Figura 4 foi verificado que as colorações formadas nas três concentrações analisadas para o fármaco clomipramina não apresentaram diferenças de tonalidades ou turvação quando comparadas ao branco em todos os reativos, exceto para o DRAGENDORFF.



**Figura 4 – Resultados colorimétricos obtidos no teste de sensibilidade e especificidade dos reativos para o fármaco clomipramina.**

Legenda: A: Dragendorff/ B: Bertrand/ C: FPN/ D: Verde de Bromocresol/ E: Forrest/ C1: 10 ppm/ C2: 1,0 ppm/ C3: 0,1 ppm

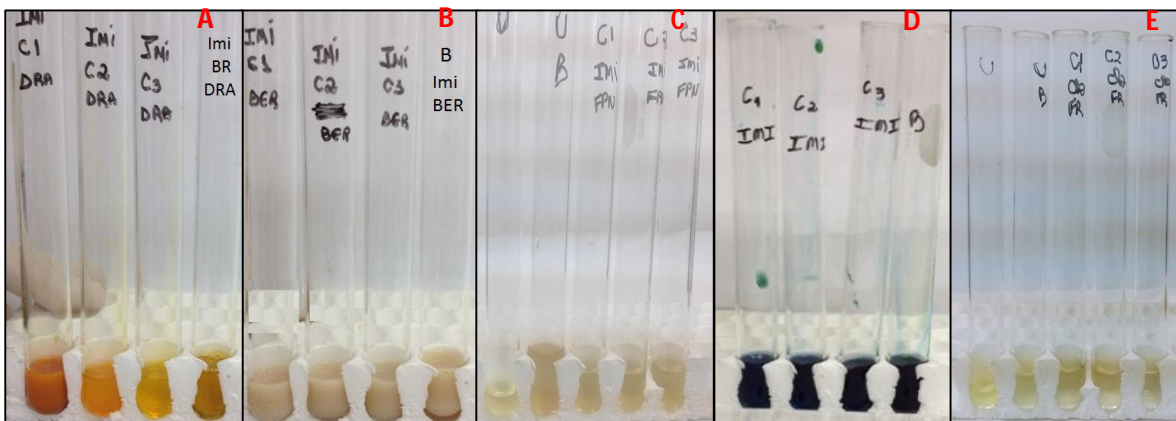
Fonte: elaborado pelo autor.

Na análise de sensibilidade dos reativos para o fármaco imipramina, foi possível verificar que somente o reativo de DRAGENDORFF apresentou reação positiva para a identificação do fármaco na urina em nas concentrações de 10 1,0 e 0,1 ppm (Tabela 3).

**Tabela 3 – Resultados obtidos no teste de sensibilidade e especificidade dos reativos para o fármaco imipramina.**

Concentrações	Dragendorff	Bertrand	FPN	Verde de bromocresol	Forrest
<b>10 ppm</b>	Positivo Alaranjado	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>1 ppm</b>	Positivo Alaranjado	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>0,1 ppm</b>	Positivo Alaranjado	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Conforme Figura 5, foi verificado que as colorações formadas nas três concentrações analisadas para o fármaco imipramina não apresentaram diferenças de tonalidades ou turvação quando comparadas ao branco em todos os reativos, exceto para o DRAGENDORFF.



**Figura 5 – Resultados colorimétricos obtidos no teste de sensibilidade e especificidade dos reativos para o fármaco imipramina.**

Legenda: A: Dragendorff/ B: Bertrand/ C: FPN/ D: Verde de Bromocresol/ E: Forrest/ C1: 10 ppm/ C2: 1 ppm/ C3: 0,1 ppm

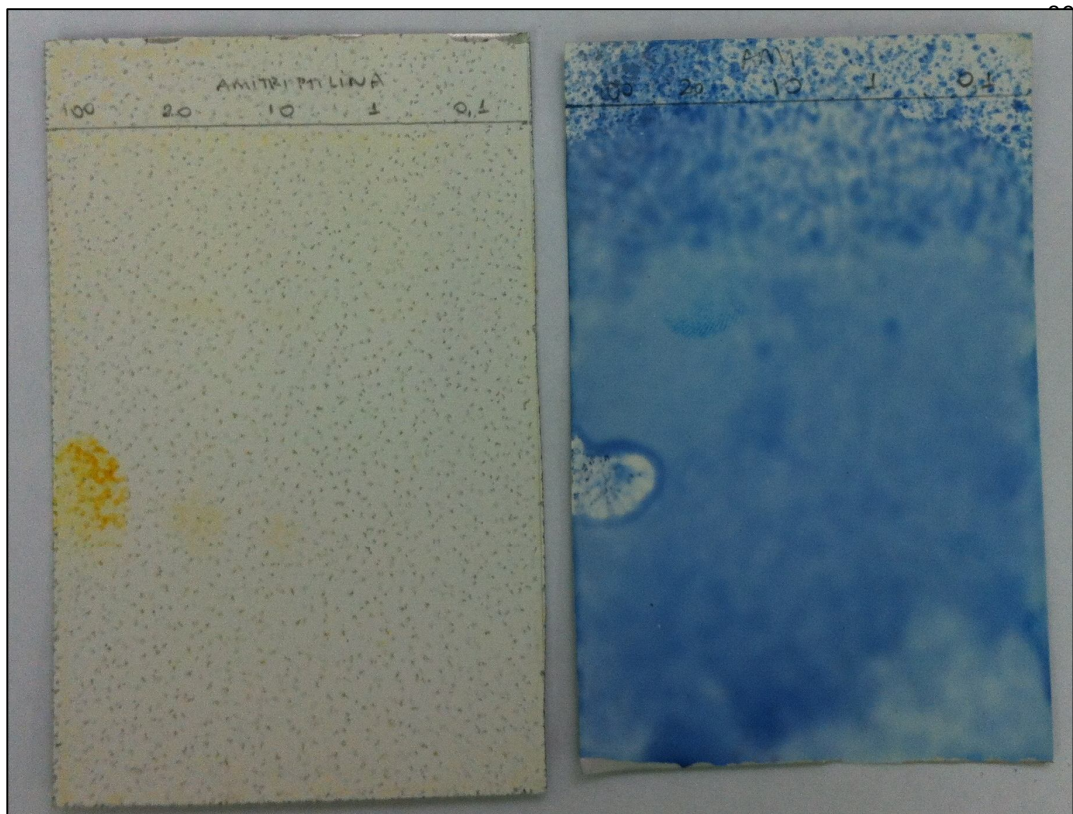
Fonte: elaborado pelo autor.

Na avaliação do parâmetro de especificidade verificamos que somente o reativo de DRAGENDORFF apresentou especificidade para os fármacos testados, especialmente a clomipramina e imipramina.

Segundo Moreira; Caldas (2001) todos os reativos testados são utilizados para a identificação de compostos com caráter básico, sendo considerados reativos de testes gerais de triagem toxicológica. Entretanto, nas concentrações testadas, somente o reativo de DRAGENDORFF apresentou positividade no teste.

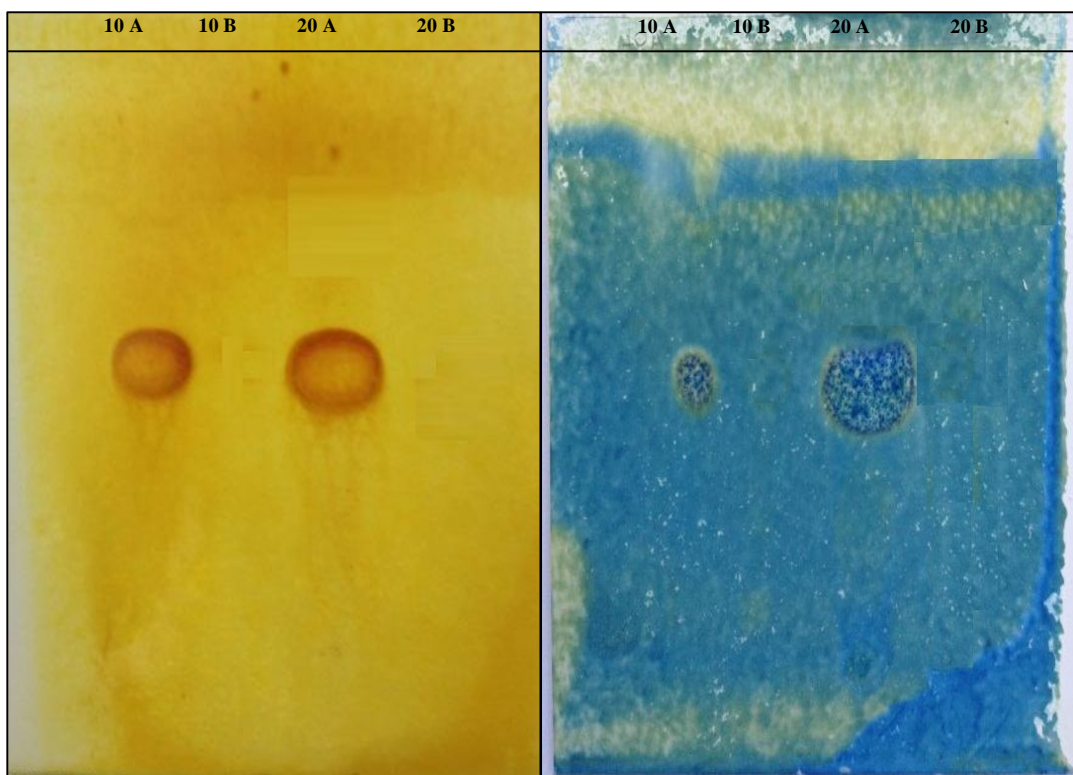
Nas análises cromatográficas comparativas para o fármaco amitriptilina após a utilização das sequências 1 e 2 de aplicação de reativos foi possível verificar a formação de manchas nas concentrações nas concentrações de 100, 20 e 10 ppm na placa padrão (Figura 6) e nas concentrações de 20 e 10 ppm na placa de amostra (Figuras 7 e 8). Os valores de Rf obtidos tanto na placa padrão como na amostra foi de 0,42. Moraes; Szelwar; Fernicola (1991) encontraram valor médio de 0,60 para a amitriptilina utilizando o mesmo tipo de sistema solvente na aplicação de 13 amostras.





**Figura 6 – Análise cromatográfica do padrão de amitriptilina.**

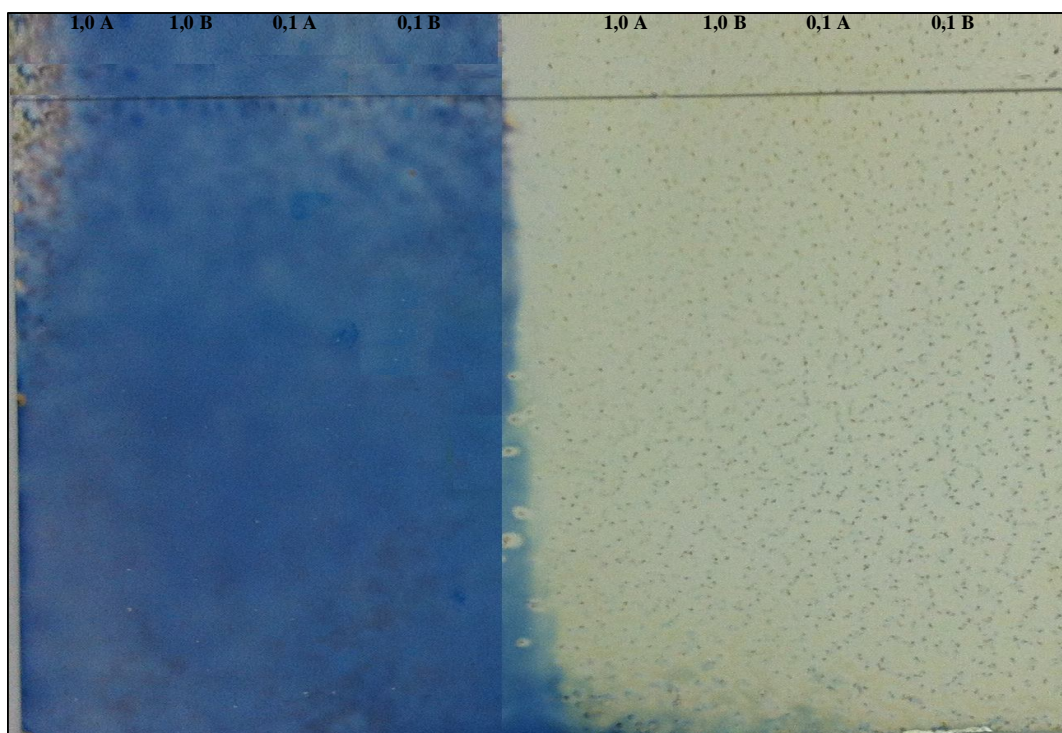
Fonte: elaborado pelo autor.



**Figura 7 – Análise cromatográfica da amostra de amitriptilina nas concentrações de 10 e 20 ppm.**

Legenda: A – amostra ácida / B – amostra básica / 10 – 10 ppm / 20 – 20 ppm.

Fonte: elaborado pelo autor.

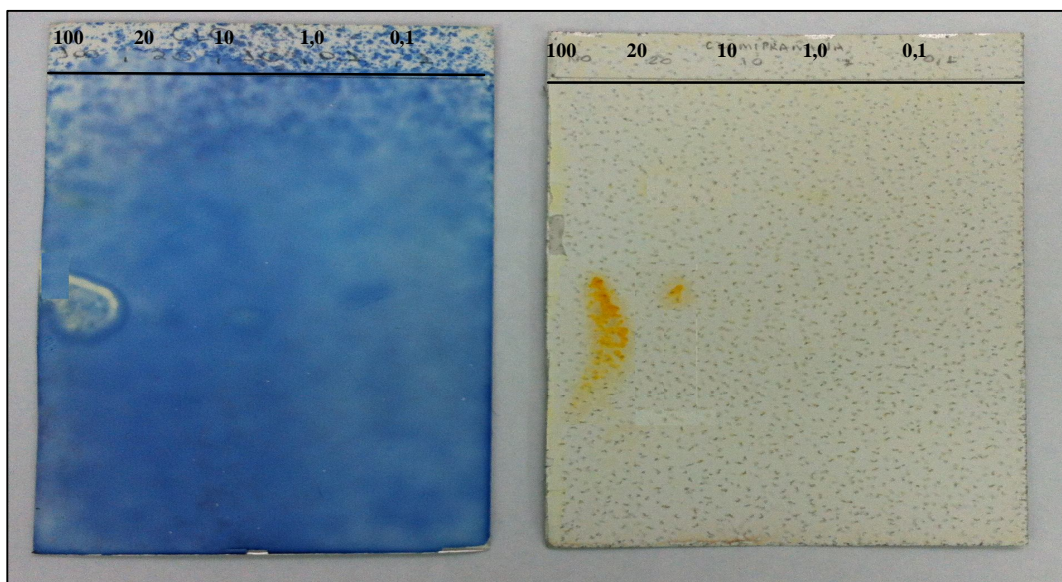


**Figura 8 – Análise cromatográfica da amostra de amitriptilina nas concentrações de 1,0 e 0,1 ppm.**

Legenda: A – amostra ácida / B – amostra básica / 1,0 – 1,0 ppm / 0,1 – 0,1 ppm.

Fonte: elaborado pelo autor.

Nas análises cromatográficas comparativas para o fármaco clomipramina após a utilização das sequências 1 e 2 de aplicação dos reativos foi possível verificar a formação de manchas nas concentrações de 100 e 20 ppm na placa padrão (Figura 9), enquanto que, na placa de amostra não foi possível visualizar mancha nas concentrações 10, 1,0 e 0,1 ppm (Figura 10). Os valores de Rf obtidos tanto na placa padrão como na amostra foi de 0,4.

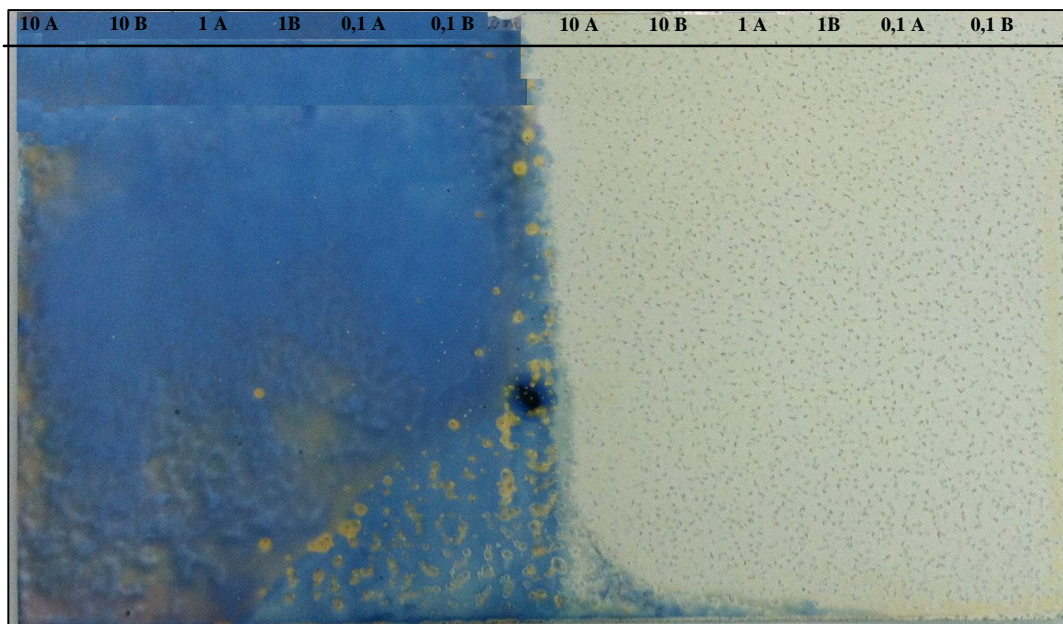




**Figura 9 – Análise cromatográfica do padrão de clomipramina nas concentrações de 100, 20, 10, 1,0 e 0,1 ppm.**

Legenda: A – amostra ácida / B – amostra básica / 100 – 100 ppm / 20 – 20 ppm / 10 – 10 ppm / 1,0 – 1,0 ppm / 0,1 – 0,1 ppm.

Fonte: elaborado pelo autor.

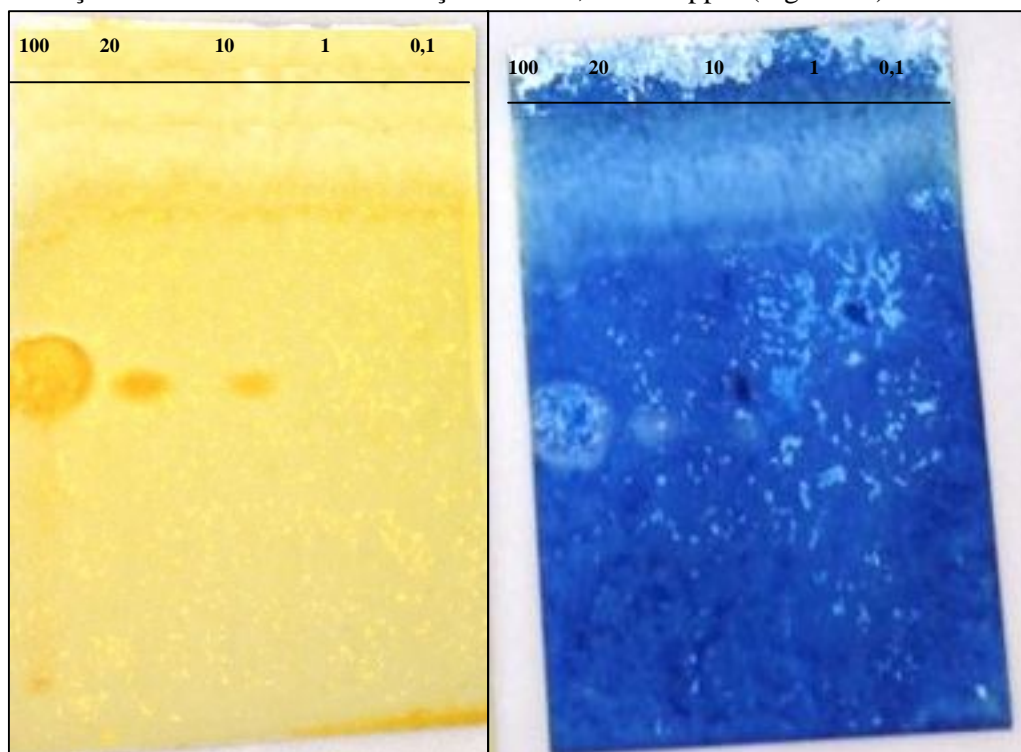


**Figura 10 – Análise cromatográfica do padrão de clomipramina nas concentrações de 100, 20, 10, 1,0 e 0,1 ppm.**

Legenda: A – amostra ácida / B – amostra básica / 10 – 10 ppm / 1,0 – 1,0 ppm / 0,1 – 0,1 ppm.

Fonte: elaborado pelo autor.

Nas análises cromatográficas comparativas para o fármaco imipramina após a utilização das seqüências 1 e 2 de aplicação dos reativos foi possível verificar a formação de manchas nas concentrações de 100, 20 e 10 ppm (Figura 12).

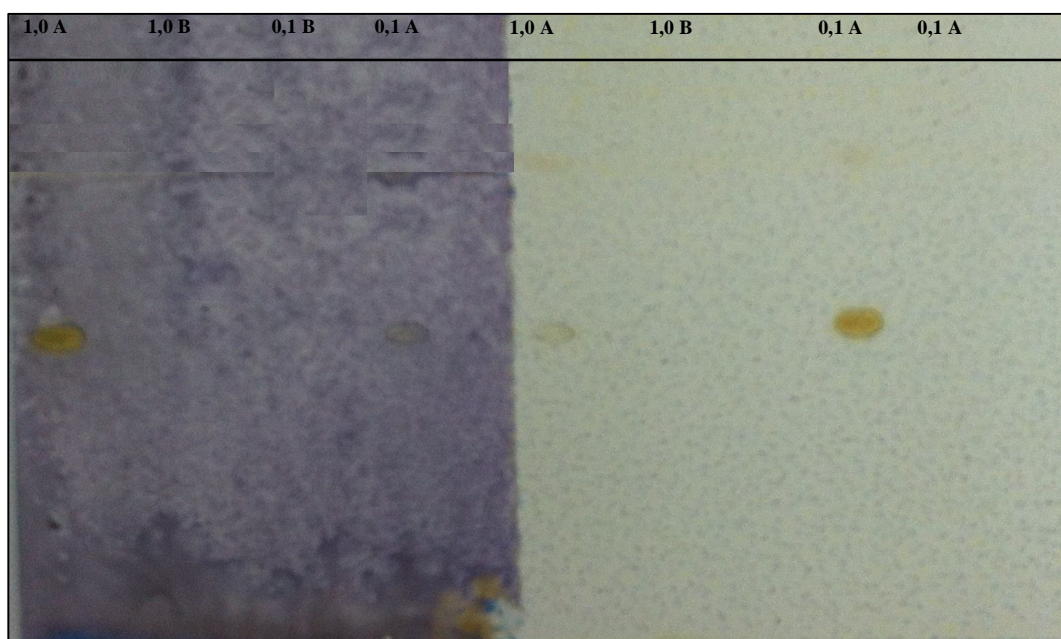


**Figura 11 – Análise cromatográfica da amostra de imipramina nas concentrações de 100, 20, 10, 1,0 e 0,1 ppm.**

Legenda: A – amostra ácida / B – amostra básica / 100 – 100 ppm / 20 – 20 ppm / 10 – 10 ppm / 1,0 – 1,0 ppm / 0,1 – 0,1 ppm.

Fonte: elaborado pelo autor.

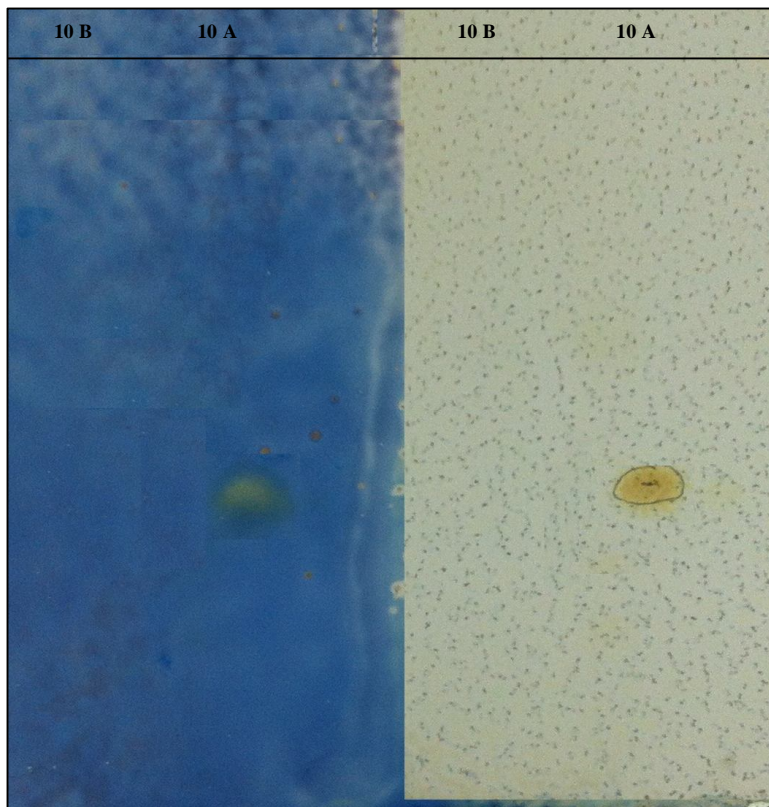
Nas concentrações de 10, 1,0 e 0,1 ppm na placa de amostra também foi possível verificar a formação de coloração (Figuras 12 e 13). Os valores de Rf obtidos tanto na placa padrão como na amostra foi de 0,4. Moraes; Sznelwar; Fernicola (1991) encontraram valor médio de 0,50 para a imipramina utilizando o mesmo tipo de sistema solvente na aplicação de 20 amostras.



**Figura 12 – Análise cromatográfica da amostra de imipramina nas concentrações de 1,0 e 0,1 ppm.**

Legenda: A – amostra ácida / B – amostra básica / 1,0 – 1,0 ppm / 0,1 – 0,1 ppm.

Fonte: elaborado pelo autor.



**Figura 13 – Análise cromatográfica da amostra de imipramina na concentração de 10 ppm.**

Legenda: A – amostra ácida / B – amostra básica / 10 – 10 ppm .

Fonte: elaborado pelo autor.

Os reveladores cromatogênicos em ambas as sequências testadas apresentaram um perfil adequado para a identificação dos fármacos antipsicóticos, sendo que, a maior sensibilidade foi para o fármaco imipramina. Em relação a seletividade, foi possível diferenciar os compostos devido as diferenças significativas de Rf encontradas.

Segundo Moreau (2008) diversos fatores podem influenciar na reprodutibilidade dos valores de Rf, incluindo a placa de CCD (ativação, espessura da sílica, forma de preparação), a quantidade de analito aplicada na placa, o grau de saturação da cuba e a temperatura ambiente.

O revelador cromatogênico DRAGENDROFF é considerado um revelador geral, para substâncias de caráter ácido, básico e neutro, com bastante sensibilidade, indicado na revelação de alcalóides e compostos que contêm nitrogênio. Já o revelador verde de bromocresol é um corante indicador de pH, sendo que, o intervalo de viragem situa-se entre 3,8 e 5,4 apresentando coloração azul para compostos alcalinos. Este revelador normalmente é empregado na identificação e diferenciação de aminas primárias e

secundárias que não se coram facilmente com o DRAGENDORFF (MOREAU, 2011; MORAES; SZNELWAR; FERNICOLA, 1991).

## 6 CONCLUSÃO

A análise de triagem toxicológica de urgência representa uma das áreas da toxicologia que se dedicam ao diagnóstico laboratorial por meio de identificação de substâncias químicas com o objetivo principal o atendimento especializado ao paciente intoxicado, sendo imprescindível para o diagnóstico clínico imediato, o prognóstico e a correta terapêutica ao paciente intoxicado.

Este tipo de análise constitui um processo cuja finalidade é confirmar ou negar a presença de uma substância tóxica que esteja atuando sobre o organismo, provocando uma intoxicação evidenciada por um quadro sintomático. Tais análises devem apresentar sensibilidade e especificidade adequada para garantir um resultado confiável ao diagnóstico toxicológico.

Desta forma, consideramos que a utilização conjunta de análises de triagem toxicológica favorecem o conhecimento do possível composto desconhecido a partir da combinação de diferentes tipos de reativos químicos e reveladores cromatogênicos, pois há variações quanto a seletividade e sensibilidade de cada composto químico.

## REFERÊNCIAS

- AMARAL, D. A.; COLLARES, C. F. **Intoxicações agudas**. In.: HIGA, E. M. S.; ATALLAH, A. N. Guia de Medicina Ambulatorial e Hospitalar da UNIFESP-EPM. Medicina de Urgência 2 ed. São Paulo: Manole, 2008.
- AMÉRICO, M. A.; MOSSIN, S. A. G.; NISHIYAMA, P. Perfil de fármacos por espectrofotometria no ultravioleta. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. Paraná, v. 40, n. 4. P. 257-259, ago, 2008.
- AZEREDO, F. S.; GUIMARÃES, R. I.; PAULA, J. R.; CUNHA, L. C. Validação de técnica analítica em cromatografia em camada delgada comparativa para a identificação de fármacos anorexígenos sintéticos em fitoterápicos. **Revista Eletrônica de Farmácia**. Goiás, v. 1, p. 17-24, nov. , 2004.
- BALEY, L. C. **Cromatografia**. In.: GENNARO, A. R. Remington: A ciência e prática da farmácia. 20 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- BLANKE, R. V.; POKLIS, A. **Analytical/Forense Toxicology**. In.: KLASSEN, C. D.; AMDUR, M. O.; DOULL, J. Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons. 5 ed. New York: McGrall-Hill, p. 905-923, 1996.
- FERNANDES, G.; PALVO, F.; PINTON, F. A.; DOURADO, D. A. N.; MENDES, C. A. C. Impacto das intoxicações por antidepressivos tricíclicos comparados aos depressores do "sistema nervoso central". **Arq. Ciênc. Saúde**. jul-set, v. 13, n. 3, P. 61-65, 2006.
- FILHO, A. A.; TAVARES, C. A.; OLIVEIRA, H. A. C. **Antidepressivos Tricíclicos**. In.: FILHO, A. A.; CAMPOLINA, D.; DIAS, M. B. Toxicologia na prática clínica. Belo Horizonte: Folium, 2001. p. 67-72.
- GANDOLFI, E.; ANDRADE, M. G. G. Eventos toxicológicos relacionados a medicamentos no Estado de São Paulo. **Rev. Saúde Pública**. v. 40, n. 6, p. 1056-1064, 2006.
- GONZÁLEZ, F. H. D.; DA SILVA, S. C. **Patologia clínica veterinária: texto introdutório**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008. 342 p.
- HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E. **Goodman & Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica**. 10 ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill; 2003.



KARP, J. **Biologia celular e molecular**: conceitos e experimentos. 3 ed. São Paulo: Manole, 2005.

KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J. H. **Química Farmacêutica**. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.

LINDEN, R.; SARTORI, S.; KELLERMANN, E.; SOUTO, A. A. Identificação de substâncias em análise toxicológica sistemática utilizando um sistema informatizado para cálculo de parâmetros cromatográficos e busca de dados. **Quim. Nova** São Paulo v. 30, n. 2 Mar/Abr, 2007.

LÜLLMANN, H.; MORH, K. **Farmacologia**: texto e atlas. 6 ed. São Paulo: Artmed, 2010.

MATSIKA, M. D.; TOURNIER, M.; LAGNAOUI, R.; PEHOURCQ, F. et al. Comparison of patient questionnaires and plasma assays in intentional drug overdoses. **Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.** Jul, v. 95, n. 1, p. 31-7, 2004

MOREAU, R. L. M. **Fármacos**: triagem em urina por cromatografia em camada degalda (CCD). IN.: MOREAU, R. L. M.; SIQUEIRA, E. P. B. **Toxicologia analítica**. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. p. 254-260.

MOREAU, R. L. M.; SIQUEIRA, E. P. B. **Toxicologia analítica**. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

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

MORENO, R. A.; MORENO, D. H.; SOARES, M. B. M. Psicofarmacologia dos antidepressivos. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. São Paulo. v. 1, supl. 1, p. 24-40, 1999.

NEWTON, E. H.; SHIH, R. D.; HOFFMAN, R. S. Cyclic antidepressant overdose: a review of current management strategies. **Am. J. Emerg. Med.** v. 12, n. 3, p. 376-9, 1994.

PASSAGLI, W. **Toxicologia forense**: teoria e prática. Millenium: Campinas, 2007.

RAMCHANDANI, P.; MURRAY, B.; HAWTON, K.; HOUSE, A. Deliberate self poisoning with antidepressant drugs: a comparison of the relative hospital costs of cases

of overdose of tricyclics with those of selective-serotonin re-uptake inhibitors. **J. Affect Disord.** v. 60, n. 2, p. 97-100, 2000.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. *Farmacologia*. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

SCIPPA, A. M. A. M.; OLIVEIRA, I. R. **Antidepressivos**. In.: SILVA, P. *Farmacologia*. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. p. 337-354