

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo será disponibilizado somente a partir de 28/09/2019.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE QUÍMICA DE ARARAQUARA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

MAYARA PRISCILA DE FARIA

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO SIMPLES, RÁPIDO E
AMBIENTALMENTE MAIS AMIGÁVEL PARA DETERMINAÇÃO DE SALICILATO EM
MEDICAMENTOS E URINA.**

Araraquara

2017

Mayara Priscila de Faria

Desenvolvimento de método analítico simples, rápido e ambientalmente mais amigável para determinação de salicilato em medicamentos e urina.

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Pezza

Araraquara

FICHA CATALOGRÁFICA

F224d Faria, Mayara Priscila de
Desenvolvimento de método analítico simples, rápido e
ambientalmente mais amigável para determinação de
salicilato em medicamento e urina / Mayara Priscila de
Faria. – Araraquara : [s.n.], 2017
58 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Química
Orientador: Leonardo Pezza

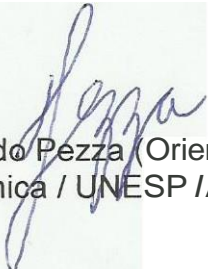
1. Química analítica. 2. Aspirina. 3. Imagens digitais.
4. Medicamentos. 5. Urina. I. Título.

MAYARA PRISCILA DE FARIA

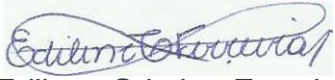
Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Química.

Araraquara, 28 de setembro de 2017.

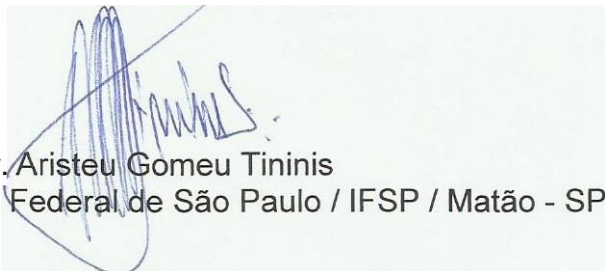
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Leonardo Pezza (Orientador)
Instituto de Química / UNESP / Araraquara - SP



ProFDri Edilene Cristina Ferreira
Instituto de Química / UNESP / Araraquara - SP



Prof. Dr. Aristeu Gomeu Tininis
Instituto Federal de São Paulo / IFSP / Matão - SP

2017

DADOS CURRICULARES

- **Dados Pessoais**

Nome: Mayara Priscila de Faria

Filiação: Maria José Campos de Faria e Vicente Paschoal de Faria

Data de nascimento: 28/01/1989

Naturalidade: Osasco – SP

Nacionalidade: Brasileira

Endereço eletrônico: mayara.prifaria@gmail.com

- **Formação acadêmica**

1. Graduação

Licenciada em Química pela Universidade Federal de Viçosa (UFV)

2. Pós-graduação

Mestrado em Química Analítica pelo Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP)

- **Trabalhos apresentados em congressos**

1. 34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Florianópolis (SC) de 23 a 26 de maio de 2011.

Trabalho: FARIA, M. P.; MORAIS, B. P.; TAVARES, E. C.; BORGES, E.; BELLATO, C. R.; LIMA, G. M.; MENEZES, D. C., Perfil farmacológico de um novo derivado ditiocarbamato de Au(I): atividade biológica frente às bactérias patogênicas *S. aureus* e *E.coli*.

2. XXV Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química. Lavras (MG) de 12 a 14 de novembro de 2011.

Trabalho: FARIA, M. P.; MENEZES, D. C.; LIMA, G. M., Investigação da atividade antibacteriana frente a *S. aureus* e *E.coli* de um novo derivado de ditiocarbamato de Au(I).

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho à minha mãe, Maria José, mulher guerreira e batalhadora que é meu exemplo de vida, amizade e amor.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por todas as oportunidades colocadas em meu caminho e assim proporcionar tantas conquistas.

A minha mãe pelo amor incondicional e por permitir, apoiar e acreditar em todos os meus desejos e sonhos.

A toda minha família pelo apoio, amor e amizade, especialmente Fabiola e Cleiton por estarem sempre presentes.

A Bráulio pelo companheirismo, amizade e apoio durante todo esse tempo. Por estar sempre presente mesmo quando está a tantos quilômetros de distância. Por me fazer mais forte, confiante e feliz todos os dias.

Ao GPFF, especialmente ao Eduardo, João Victor, Paulo, Marcos e Maria Izabel pelo auxílio durante esses dois anos e principalmente pelas risadas e amizade.

Aos amigos de Araraquara por terem se tornado minha família quando estou tão longe de casa.

Aos amigos mineiros por mesmo estando longe se fazerem tão próximos e presentes. E quando juntos me fornecerem a energia necessária para continuar esse trabalho.

Ao Prof. Leonardo Pezza pela orientação e ajuda durante o decorrer deste trabalho.

À Prof. Helena Redigolo Pezza pelos aconselhamentos.

A CAPES pela bolsa concedida.

A todos que de alguma forma contribuíram para o meu crescimento acadêmico e profissional, em especial aos professores que tive até aqui, pois sem eles não chegaria a lugar algum.

A todos vocês o meu muito obrigado.

“A mente que se abre para alguma coisa nova nunca mais será a mesma”

Albert Einstein

RESUMO

Os medicamentos são os principais causadores de intoxicação no país. Temos os analgésicos como um importante causador de intoxicação devido a facilidade de obtenção dos mesmos e o risco de sobredosagem. O ácido acetilsalicílico é o princípio ativo da aspirina o qual é um dos analgésicos e antitérmico mais utilizados no mundo, devido a isso é importante o desenvolvimento de métodos de análise rápida e fácil desse composto.

O presente trabalho propõe o estudo de uma metodologia limpa, simples e rápida para determinações de salicilatos em medicamentos e urina utilizando placas de toque como suporte de reação. A reação a ser utilizada na presente proposta, baseia-se no método de Trinder, o qual envolve a reação dos íons salicilatos, com os íons Fe^{+3} , resultando na formação de um complexo de coloração violeta [Salicilato-Fe(III)], que apresenta um máximo de absorção em torno de 525nm.

As análises foram realizadas através de tratamento digital, empregando fotografia digital analisando-os em softwares disponíveis comercialmente, tornando a metodologia mais simples, barata e conseqüentemente mais acessível.

O método desenvolvido apresentou curva analítica $y = 0,003x + 0,026$ com $R = 0,999$. O limite de quantificação e detecção obtidos são respectivamente 1,28 mg/L e 3,78 mg/L. Os testes para avaliação de interferência de matriz apresentaram resultados de recuperação entre 97 – 104,7% em urina sintética, 95 – 104,2% em urina natural e entre 96 – 105% em amostras de medicamentos concluindo que as matrizes não influenciam de maneira significativa na determinação dos analitos. A metodologia desenvolvida foi comparada com métodos já descritos na literatura para as amostras de medicamentos e urina, e os resultados obtidos foram comparados estatisticamente pelo teste t de *Student*, sendo que os valores de t calculados foram numericamente inferiores que o valor de t tabelado para todas as amostras, indicando que não há diferença estatística entre os valores encontrados pelas duas metodologias.

Palavras-chave: Ácido acetilsalicílico. Salicilato. Medicamento. Urina. Imagem digital.

ABSTRACT

Medicines are the main cause of intoxication in the country. Analgesics are an important group of drugs causing intoxication due to the ease of obtaining them and the risk of overdose. Acetylsalicylic acid is the active principle of aspirin, which is one of the most widely used analgesics and antipyretics in the world, because of this it is important to develop methods of quick and easy analysis of this compound. The present project proposes the study of a clean, simple and fast methodology for determinations of salicylates in drugs and urine using touchboard as reaction support.

The reaction to be used in the present proposal is based on the Trinder method, which involves the reaction of the salicylate ions with the Fe^{+3} ions, resulting in the formation of a violet color complex [Salicylate- $Fe(III)$], which has a maximum absorption of around 525nm.

The analyzes were performed through digital treatment, using digital photography analyzed in commercially available software, making the methodology simpler, cheaper and consequently more accessible.

The developed method presented analytical curve $y = 0.003x + 0.026$ with $R = 0.999$. The limit of quantification and detection obtained are respectively 15.44 mg / L and 5.10 mg / L. The tests for matrix interference assessment showed recovery results between 97-104.7% in synthetic urine, 95-104.2% in natural urine and 96-105% in drug samples, concluding that the matrices do not influence significantly in determining the analytes. The methodology developed was compared to methods already described in the literature for drug and urine samples, the results were compared statistically by the Student t test, the calculated t values were numerically lower than the value of t tabulated for all samples, indicating that there is no statistical difference between the values found by the two methodologies.

Keywords: Acetylsalicylic acid. Salicylate. Medication. Urine. Digital image.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 - Estrutura do ácido salicílico..... | 16 |
| Figura 2 - Estrutura do ácido acetilsalicílico..... | 16 |
| Figura 3 - Reação de acetilação do ácido salicílico obtendo o ácido acetilsalicílico..... | 17 |
| Figura 4 - Reação entre salicilato e Fe(III) em meio ácido | 21 |
| Figura 5: Imagem do software ImageJ aberto, mostrando os dados obtidos da área selecionada em uma solução de salicilato com concentração igual a 100 mg/L; o histograma obtido e os resultados numéricos de RGB estão exibidos nas diferentes janelas da imagem..... | 27 |
| Figura 6 – Esquema que resume o procedimento experimental no desenvolvimento da metodologia proposta..... | 28 |
| Figura 7 - Reação de salicilato com nitrato de ferro (III) em meio ácido no papel de filtro qualitativo com área delimitada com cera..... | 32 |
| Figura 8 - Reação de salicilato com nitrato de ferro(III) em meio ácido na placa de celulose | 33 |
| Figura 9 - Reação de salicilato com nitrato de ferro (III) em meio ácido na placa de sílica | 33 |
| Figura 10 - Suporte utilizado para obtenção das imagens com luminosidade constante e placa de porcelana contendo soluções utilizadas para análise | 34 |
| Figura 11 - Solução da reação de salicilato com nitrato de ferro(III) em meio ácido na placa de vidro. Imagem obtida por <i>scanner</i> | 35 |
| Figura 12 - Solução da reação entre o salicilato e o íon Fe ³⁺ em meio ácido na placa de porcelana. Luminosidade obtida através de lâmpadas LED contidas na caixa | 36 |
| Figura 13 - Solução da reação entre o salicilato e o íon Fe ³⁺ em meio ácido na placa de porcelana. Luminosidade obtida através do <i>flash</i> do celular | 36 |
| Figura 14 - Curva analítica que compara a inclinação dos canais de cores Red, Green e Blue | 38 |

| | |
|--|----|
| Figura 15 - (a) Superfície de resposta e (b) Curva de nível para a reação | 40 |
| Figura 16 - Resultado do teste de estabilidade ótica para a reação | 41 |
| Figura 17 - Curva analítica da intensidade efetiva em função da concentração de salicilato. Equação da reta: $y = 0,003x - 0,026$ e $R = 0,999$ e $n=3$ | 42 |
| Figura 18 - Cromatograma obtido da análise do salicilato na fase móvel | 48 |
| Figura 19 - Curva analítica para o salicilato pelo método comparativo – HPLC. Equação da reta: $y = 30063x + 18840$ e $R = 0,999$ e $n = 3$ | 48 |
| Figura 20 - Cromatograma obtido da análise do salicilato em urina natural | 49 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Relação quantidade ingerida de e severidade do AAS no indivíduo | 18 |
| Tabela 2 - Comparação de diferentes métodos de análises de salicilato em diversas matrizes..... | 19 |
| Tabela 3 - Composição da solução de urina sintética | 25 |
| Tabela 4 - Intervalos de concentração dos parâmetros a serem otimizados | 29 |
| Tabela 5 - Condições cromatográficas do método comparativo | 31 |
| Tabela 6 - Comparação da intensidade efetiva na placa de vidro e na placa de toque, n=3 | 35 |
| Tabela 7 - Influência da sensibilidade na ordem de adição, n=3..... | 37 |
| Tabela 8 - Média das intensidades efetivas calculados através do <i>software</i> ImageJ..... | 37 |
| Tabela 9 - Matriz de planejamento para construção da superfície de resposta com os respectivos resultados, n=3 | 39 |
| Tabela 10 - Média da intensidade efetiva da reação no teste de estabilidade, n=3..... | 41 |
| Tabela 11 - Resultado da repetibilidade intradia e interdia..... | 43 |
| Tabela 12 - Resultados do teste de adição de padrão e recuperação em quatro amostras de medicamentos contendo ácido acetilsalicílico, n=3 | 44 |
| Tabela 13 - Resultado do teste de adição de padrão e recuperação em urina sintética e natural, n=3 | 45 |
| Tabela 14 - Quantificação de AAS em medicamentos pelo método proposto, n=3. | 46 |
| Tabela 15 - Quantificação de AAS pela metodologia oficial, n=3. | 46 |
| Tabela 16 - Quantificação de salicilato em urina natural pelo método proposto, n=3..... | 47 |
| Tabela 17 - Quantificação de salicilato em urina natural pelo método comparativo, n=3..... | 49 |

Tabela 18- Teste t de *Student* para determinação de AAS em diferentes amostras de medicamentos, n=3.....50

Tabela 19 - Teste t de *Student* para determinação de salicilato em diferentes amostras de urina natural, n=3..... 50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|--------------------|---|
| μL | Microlitro |
| μm | Micrómetro |
| λ | Comprimento de onda |
| A | Intensidade efetiva |
| AAS | Ácido acetilsalicílico |
| b | Coeficiente angular |
| cm | Centímetro |
| $^{\circ}\text{C}$ | graus Celsius |
| FM | Fase móvel |
| g | grama |
| HCl | Ácido clorídrico |
| HPLC | High Performance Liquid Chromatography (em português Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE) |
| I | Intensidade de radiação |
| I_0 | intensidade de radiação do branco da reação |
| kg | Quilograma |
| kgf | Quilograma-força |
| L | Litro |
| LD | Limite de detecção |
| LQ | Limite de quantificação |
| mg | miligrama |
| mL | microlitro |
| mm | milímetro |
| nm | nanometro |
| NaOH | Hidróxido de sódio |
| pH | logaritmo negativo da atividade de íons hidrogênio |
| rpm | Rotação por minuto |
| SD | Desvio-padrão |
| SINITOX | Sistema Nacional de Informação Tóxicas Farmacológicas |
| t_R | Tempo de retenção (min) |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 15 |
| 1.1 Ácido acetilsalicílico | 15 |
| 1.2 Imagem digital | 20 |
| 1.3 Química Verde | 21 |
| 2. OBJETIVOS | 23 |
| 3. PARTE EXPERIMENTAL | 24 |
| 3.1 Equipamentos..... | 24 |
| 3.2 Reagentes | 24 |
| 3.3 Preparo de soluções | 25 |
| 3.3.1 <i>Solução de urina sintética</i> | 25 |
| 3.3.2 <i>Solução de urina natural</i> | 25 |
| 3.3.3 <i>Solução de medicamento</i> | 26 |
| 3.3.4 <i>Solução da fase móvel</i> | 26 |
| 3.3.5 <i>Outras soluções</i> | 26 |
| 3.4 Metodologia | 27 |
| 3.5 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL | 28 |
| 3.5.1 Testes preliminares | 28 |
| 3.5.2 Otimização das condições experimentais..... | 29 |
| 3.5.2.1 <i>Planejamento fatorial completo com ponto central</i> | 29 |
| 3.5.2.2 <i>Testes de estabilidade do produto formado</i> | 29 |
| 3.5.2.3 <i>Curva analítica</i> | 29 |
| 3.5.2.4 <i>Adição de padrão e recuperação</i> | 30 |
| 3.5.2.5 <i>Aplicação da metodologia proposta</i> | 30 |
| 3.5.2.6 <i>Metodologia oficial de determinação de AAS em medicamentos</i> | 30 |
| 3.5.2.7 <i>Método comparativo – HPLC (matriz: urina)</i> | 30 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES | 32 |

| | |
|--|-----------|
| 4.1 Testes preliminares | 32 |
| 4.1.1 <i>Testes utilizando papel de filtro qualitativo com área delimitada com cera, em suporte de celulose e sílica</i> | 32 |
| 4.1.2 <i>Testes utilizando placas de toque e de vidro</i> | 34 |
| 4.1.3 <i>Ordem de adição</i> | 47 |
| 4.1.4 <i>Escolha do canal de cor</i> | 37 |
| 4.2 Otimização das condições experimentais | 38 |
| 4.2.1 <i>Planejamento fatorial completo com ponto central</i> | 38 |
| 4.2.2 <i>Estabilidade do produto da reação</i> | 41 |
| 4.2.3 <i>Curva analítica</i> | 42 |
| 4.2.4 <i>Limite de detecção e quantificação</i> | 42 |
| 4.2.5 <i>Repetibilidade</i> | 43 |
| 4.2.6 <i>Estudos de interferentes</i> | 53 |
| 4.3 Aplicação em amostras | 45 |
| 4.3.1 <i>Aplicação da metodologia proposta em medicamentos contendo AAS</i> | 45 |
| 4.3.2 <i>Métodologia oficial para as análises dos medicamentos contendo AAS</i> | 46 |
| 4.3.3 <i>Aplicação da metodologia proposta na urina natural</i> | 47 |
| 4.3.4 <i>Método comparativo nas análises de urina natural – HPLC</i> | 47 |
| 4.3.5 <i>Comparação de resultados</i> | 49 |
| 5. CONCLUSÃO | 52 |
| REFERÊNCIA | |

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, são registrados milhares de casos de intoxicação todos os anos, seja pela ingestão de alimentos contaminados, medicamentos, produtos de limpeza e outras substâncias químicas (MOTA, 2012). Segundo o Sistema Nacional de Informação Tóxicas Farmacológicas (SINITOX), desde 1994, os medicamentos tem sido os maiores causadores de intoxicação em humanos registrados no país. No levantamento feito em 2013, foram registrados, 11.985 casos de intoxicação por uso de medicamentos, o que corresponde a 28% do total de casos, de todos os tipos de intoxicação registrados naquele ano. Além disso, o mesmo levantamento registrou um total de 46 casos de óbito, e 35 casos de tentativa de suicídio.

Dentre as causas de intoxicação por medicamentos destaca-se a automedicação, o erro na administração de dosagem, prescrição médica inadequada, tentativa de suicídio, acidentes envolvendo crianças, entre outros.

Partindo das principais causas de intoxicação, destacam-se os analgésicos antitérmicos e antiinflamatórios não hormonais, os quais são os mais utilizados por adultos e crianças (BRICKS, 1998), pois há uma facilidade na compra, já que não é exigida receita médica, ocorrendo assim casos de automedicação. A ingestão acidental excessiva de tais medicamentos pode causar eventos adversos com significativa morbidade e algumas vezes pode levar a morte. Mesmo em doses recomendadas pode ocorrer reações anafiláticas ou anafilatóides (BRICKS, 1998). Dentre os analgésicos os mais usados são à base de salicilato.

1.1 Ácido acetilsalicílico

Já na Antiguidade se faz uso de plantas da qual se extrai a salicilina. No século V a.C o Grego Hipócrates indicava extratos preparados a partir da folha e casca do salgueiro para o combate da febre e dor (MENEGATTI, 2001; LOPES, 2011). Então o químico italiano Raffaele Pria obteve, em 1838, o ácido salicílico sintético (Figura 1) através da hidrólise oxidativa da salicilina (MENEGATTI, 2001). Porém, somente em 1859 foi possível a síntese do ácido salicílico em grande escala, quando o químico alemão Kolbe o sintetizou em seu laboratório por um processo chamado síntese de Kolbe (LOPES, 2011). Essa síntese fez com que uma empresa norte-americana junto com a autorização de Kolbe comercializa-se o comprimido de ácido salicílico (LUIS, 2011; GRIPPE, 2016).

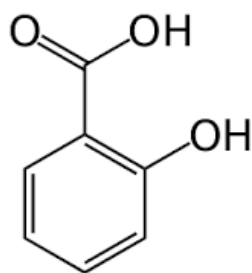


Figura 1: Estrutura do ácido salicílico.

Entretanto, eram necessárias grandes quantidades do ácido salicílico para minimizar os sintomas da artrite e da gripe e com isso os pacientes sofriam com irritações estomacais devido a acidez do produto, além disso o medicamento possuía um sabor amargo o que limitava o seu uso (LOPES, 2011).

Em 1897, para competir com os outros salicilatos surgiu o ácido acetilsalicílico (Figura 2), conhecido como AAS, o qual foi sintetizado pelo Dr. Felix Hoffman (MATIAS, 2004), que procurava uma forma de amenizar os efeitos do ácido salicílico para tratar a doença do seu pai (MASSABNI, 2006) dando origem ao medicamento conhecido como aspirina.

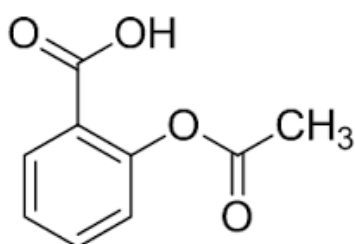


Figura 2: Estrutura do ácido acetilsalicílico.

Ainda hoje, a aspirina é um dos fármacos mais estudados em relação a sua aplicação terapêutica. No Brasil são consumidos uma média de sete comprimidos por pessoa ao ano (GRIPPE, 2016) e, nos Estados Unidos são consumidos em média 30 toneladas por ano desse medicamento (MEDEIROS, 2012).

A Figura 3 mostra como é a síntese da aspirina, a qual é obtida pela reação de acetilação do ácido salicílico com anidrido acético catalisado por ácido (MENEGATTI, 2001), essa acetilação diminui a acidez do ácido salicílico (LOPES, 2011).

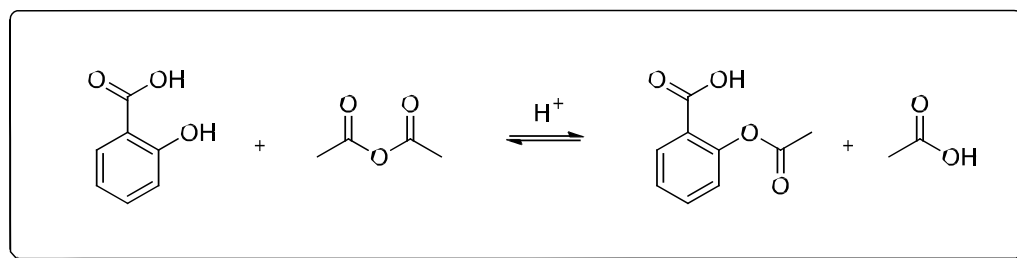


Figura 3: Reação de acetilação do ácido salicílico obtendo o ácido acetilsalicílico.

A aspirina é indicada para o alívio sintomático de dores leves a moderadas, como dor de dente, cefaleia, dor de garganta relacionada a resfriado, dores nas costas, dores musculares e nas articulações, dismenorrea, febres e resfriados comuns. Além disso, há vários estudos para sua utilização para outras condições tais como câncer colorretal, Alzheimer (RANG, 2011; MASSABANI, 2006), prevenção e tratamento cardiovascular, redução do risco de trombose e derrame cerebral (MASSABANI, 2006).

Ao ingerir o ácido acetilsalicílico, o paciente pode ter como efeitos colaterais: efeitos gastrintestinais (dor abdominal, azia, úlcera, entre outros), efeitos sobre o sistema nervoso central (tontura e zumbido), efeitos hematológicos e reações de hipersensibilidade (urticária, asma, reações cutâneas, entre outras), sendo que os efeitos no sistema nervoso central normalmente indicam uma sobredosagem do medicamento (ÁCIDO...,2015).

O ácido acetilsalicílico inibe a produção de prostaglandinas por meio da inibição da enzima cicloxigenase (COX) (MENEGATTI, 2001), essa inibição evita a formação de plaquetas que podem transformar em coágulos de sangue (MASSABANI, 2006).

Quando ingerido, o ácido acetilsalicílico é hidrolisado dando origem ao ácido salicílico o qual é responsável pelos efeitos da aspirina (OTERO, 2004). Seus níveis plasmáticos máximos são atingidos após 10 a 20 minutos no caso do ácido acetilsalicílico e em relação ao ácido salicílico é atingido entre 0,3 a 2 horas. E então, aproximadamente 10% do salicilato é eliminado pela urina (FRANCO, 2017; HEIJST, 1991). Porém tal excreção pode ser variada dependendo do pH da urina, sendo que na urina alcalina pode ser eliminado (como salicilato livre) mais de 30% do fármaco ingerido, enquanto numa urina ácida esse percentual pode ser de somente 2% (VANE, 1992).

É recomendado que a dose diária máxima de AAS para adultos e crianças acima de 12 anos seja de 4 g (BRUNTON, 2012). Para uma intoxicação letal de aspirina (Tabela 1) o indivíduo deve ingerir uma quantidade acima de 500 mg por kg de sua massa corporal (EIRAS, 2007), ou seja, um indivíduo de 70 kg deve ingerir uma

quantidade superior a 35000 mg (35 g) do medicamento, já uma criança que tenha por volta de 20 kg deve ingerir uma quantidade superior a 10000 mg (10 g).

Tabela 1: Relação da quantidade ingerida e severidade do AAS no indivíduo.

| Dose ingerida (mg/Kg) | Severidade estimada |
|------------------------------|-----------------------------|
| 150 – 300 | Toxicidade suave e moderada |
| 300 – 500 | Toxicidade grave |
| >500 | Potencialmente letal |

Fonte: EIRAS, 2007

Além disso, temos no mercado os medicamentos contendo AAS para uso pediátrico o qual possui essência de morango e muitas vezes colorações atrativas às crianças o que pode facilitar a sua ingestão excessiva pelas mesmas. A intoxicação, sobretudo em crianças pequenas, é preocupante, pois pode ser fatal.

É muito comum a ingestão acidental e suicida utilizando analgésicos contendo ácido acetilsalicílico, pois estão frequentemente disponíveis em casa e muitas vezes em lugares de fácil acesso às crianças (OTERO, 2004). Além disso, o problema da sobredosagem é comum devido ao uso frequente e pelo fato das pessoas acreditarem que a aspirina seja um analgésico inofensivo (VANE, 1992).

Os principais métodos aplicados para o tratamento de envenenamento por medicamentos são diluição, vômito e adsorção. Em relação aos analgésicos a base de salicilatos tais tratamentos deixam de ser eficazes quando o ácido salicílico é absorvido (OTERO, 2004). Com isso, o tratamento da intoxicação por salicilato é direcionado para a prevenção da absorção adicional da droga e o aumento da excreção de salicilato a partir do corpo, sendo que as crianças são tratadas com eméticos como a ipecacuanha (planta da família Rubiaceae) e os adultos são submetidos a lavagem gástrica para remover o medicamento não absorvido pelo estômago (VANE, 1992).

O salicilismo, nome dado a uma intoxicação crônica leve por salicilato, quando totalmente desenvolvida pode levar o indivíduo a sentir dor de cabeça, tonturas, tinido, dificuldade auditiva, obscurecimento da visão, confusão mental, lassidão, sonolência, sudorese, hiperventilação, náuseas, vômitos e diarreia (BRUNTON, 2012). Em intoxicações mais graves podem levar ao delírio, convulsões, coma, pirexia, hipertensão e parada cardíaca (VANE, 1992).

Pelo exposto, percebe-se a necessidade de desenvolvimento de métodos simples, de baixo custo, rápidos e portáteis para análise de salicilato, uma vez que o mesmo é rapidamente absorvido e está bastante relacionado à intoxicação. Dessa

forma, o presente trabalho usou uma metodologia de tratamento digital, sendo necessário somente uma câmera e um computador para obtenção das medidas.

A Tabela 2, traz uma comparação entre alguns métodos já descritos na literatura. A partir da tabela percebe-se que a maioria das técnicas utilizadas para análise de salicilato em urina utiliza HPLC os quais requerem o uso de solventes tóxicos, como por exemplo o metanol..

Tabela 2: Comparação de diferentes métodos de análises de salicilato em diversas matrizes.

| Técnica | Faixa linear | Matriz | Comentários | Referência |
|-------------------------------------|---|---------------------|--|-------------------|
| HPLC com detecção por fluorescência | 50 - 200 ng | Plasma e urina | Utiliza-se metanol e ácido acético como FM, álcool etílico no preparo de amostra | BEKERSKY, 1977 |
| HPLC com detecção UV | 1 – 150 µg/mL | Plasma e urina | Utiliza-se metanol e ácido acético como FM, e hexano e HCl no preparo de amostra | HARRISON, 1980 |
| HPLC com detecção UV | 0,5 – 200 µg/mL (Plasma) 6 – 200 µg/mL (urina) | Plasma e urina | Utiliza-se metanol e ácido acético como FM, acetronitrila e água como solvente e HCl e éter anidro no preparo de amostra. | BAKAR, 1981 |
| Análise em Injeção de Fluxo | 80 – 800 mg/L | Soro e medicamentos | Utiliza-se NaOH, HNO ₃ e Fe(NO ₃) ₃ .9H ₂ O | KOUPPARIS, 1988 |
| Espectrofotometria UV | 0,5 – 40 µg/mL | Medicamentos | Utiliza-se acetronitrila e ácido fórmico. | KOKOT, 1998 |
| Potenciometria | 0,5 – 3,00 mol/L | Medicamentos | Utiliza-se NaClO ₄ , C ₈ H ₅ KO ₄ , HClO ₄ , HNO ₃ , mercúrio, entre outros. | FERREIRA, 1999 |

| | | | | |
|----------------------------------|------------------|--------------|--|----------------|
| HPLC com detecção UV | 0,05 – 0,4 mg/mL | Medicamentos | Utiliza-se acetronitrila e água como FM, e ácido fosforoso no controle de pH. | FRANETA, 2001 |
| Voltametria de pulso diferencial | 1 – 60 µg/mL | Medicamentos | Utiliza-se acetronitrila. | TORRIERO, 2003 |
| Reflectância difusa | 0 – 13,2 mg | Medicamentos | Utiliza-se NaOH, HNO ₃ e Fe(NO ₃) ₃ .9H ₂ O | MATIAS, 2004 |
| Espectrometria de fluorescência | 36,8 – 248 µg/mL | Soro e urina | Utiliza água como solvente. | PULGARIN, 2011 |

1.2 Imagem digital

O uso de câmeras com sensor de dispositivos de carga acoplada tem sido introduzido na Química Analítica por diversas razões, tais como, rápida captura de imagem, fundo estável e boa linearidade, sendo assim apropriado para o desenvolvimento de métodos analíticos com alta sensibilidade e robustez (SENA, 2011). Além disso, o uso de câmera é um método de baixo custo.

Esses sensores são capazes de converter a intensidade da luz incidente sobre valores digitais armazenáveis para gerar resposta a partir de uma imagem baseada no modelo de cor RGB o qual utiliza três matrizes para armazenar informações (SENA, 2011). Nessa estratégia, a intensidade da coloração é diretamente proporcional a concentração do analito. (FRANCO, 2016).

A imagem capturada por uma câmera é correlacionada com um fenômeno de reflectância em que a radiação refletida é a radiação incidente menos a radiação que é absorvida. Com isso, a radiação refletida pode ser utilizada para, indiretamente medir a radiação absorvida e, assim correlacionar com a concentração do analito (SENA, 2011).

Com o uso da imagem digital é possível analisar o analito de forma rápida e com baixo custo, onde uma solução de coloração violeta obtida a partir de uma reação, exposta na Figura 4, conhecida como Método de Trinder (TRINDER, 1954) pode ser analisada utilizando como ferramentas principais uma câmera e um computador, os quais são equipamentos portáteis e de fácil operação, além de fornecerem resultados de simples análise, não necessitando de técnicos capacitados.

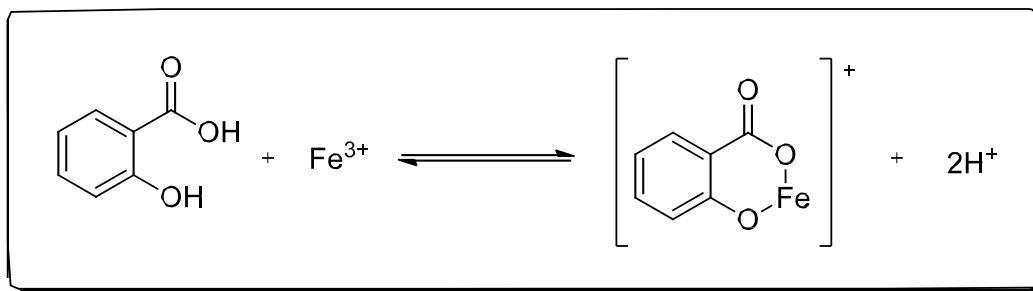


Figura 4: Reação entre salicilato e íons de Fe^{3+} em meio ácido (E SÁ, 2006)

1.3 Química Verde

Há alguns anos aumentou-se a preocupação com o meio ambiente e com o bem-estar e saúde dos seres vivos, com isso tem-se buscado alternativas para contornar os danos causados pelos seres humanos surgindo assim a Química Verde. No início de 1990 iniciou-se o desenvolvimento da Química Verde com a introdução de novos conceitos e valores para as atividades fundamentais da química assim como para os diversos setores industriais (AGUIAR, 2014).

A Química Verde tem como objetivo desenvolver as ações científicas e processos industriais ecologicamente corretos, com isso, buscam minimizar o impacto negativo causado ao homem e ao meio ambiente visando o aumento da segurança dos processos e resolver questões mundiais, tais com: mudança climática, produção de energia, disponibilidade de recursos hídricos, produção de alimentos e emissão de substâncias tóxicas ao meio ambiente (AGUIAR, 2014).

De forma a alcançar os objetivos da Química Verde temos os seus 12 princípios (ANASTAS, 2002):

1. Prevenção da formação de resíduos tóxicos de forma a não ser necessário trata-los posteriormente;
2. Desenvolver métodos sintéticos que incorporem o maior número possível de átomos dos reagentes no produto final;
3. Sintetizar produtos menos perigosos que usam e geram substâncias que possuam pouco ou nenhuma toxicidade à saúde humana e ao meio ambiente;
4. Obter produtos seguros e atóxicos que atendem às necessidades para as quais foram fabricados;
5. Utilizar solventes e auxiliares seguros, que não provoquem danos ou que sejam facilmente reutilizáveis;
6. Sempre que possível os processos devem ser realizados à temperatura e pressão ambiente de forma a buscar uma maior eficiência energética;

7. Utilizar preferencialmente fontes de matéria-prima renováveis;
8. Evitar ou minimizar a derivatização excessiva (proteção/desproteção, uso de bloqueadores, entre outros) de forma a diminuir o uso de reagentes e geração de resíduos;
9. Utilizar catalisadores mais seletivos de forma a aumentar a velocidade de processos químicos;
10. Os produtos químicos formados devem ser desenhados para que no fim de sua função facilite sua biodegradação;
11. Desenvolver metodologias capazes de monitorar e controlar em tempo real a formação de substâncias tóxicas antes mesmo de sua ocorrência;
12. As substâncias químicas e a sua utilização devem ser escolhidas de forma a reduzir ao mínimo os riscos de acidente químico.

Dos 12 princípios da Química Verde pode-se destacar cinco que se aplicam a metodologia proposta, os quais são: a prevenção de resíduos tóxicos (1), uso de solventes seguros (5), não se utiliza derivação (8), a metodologia é realizada em temperatura e pressão ambiente (6) e as substâncias químicas utilizadas não apresentam um potencial risco de acidentes químicos (12).

Sendo assim, o presente trabalho visa aplicar a Química Verde no desenvolvimento de uma nova metodologia para determinação de salicilato em medicamentos e urina utilizando imagem digital. Nessa metodologia pretende-se dispensar o uso de solventes orgânicos nocivos, eliminar o uso de equipamentos de alto custo e simplificar as análises de determinação e quantificação de salicilato.

5 CONCLUSÃO

Ao término do trabalho é possível concluir que foi desenvolvido um novo método para determinação de salicilato em amostras de urina natural e medicamentos utilizando o método de imagem digital.

Os testes de adição de padrão e recuperação mostraram que as matrizes não interferem de maneira significativa na determinação do analito.

Ao ser comparado os resultados obtidos pelo método proposto com os resultados obtidos por metodologias oficiais ou comparativas, o teste estatístico utilizado mostrou que os resultados obtidos são estatisticamente equivalentes.

O método proposto engloba todos os níveis de intoxicação não sendo necessário realizar pré-concentração da amostra.

A metodologia proposta apresenta simplicidade em sua execução e utiliza equipamentos portáteis e de baixo custo. Com o método proposto é possível fazer a transferência rápida das informações via celular, o que favorece no diagnóstico rápido em casos de intoxicação. Adicionalmente, o método proposto não utiliza solventes tóxicos para sua análise o que está em concordância com os princípios da Química Verde.

REFERÊNCIAS

- ÁCIDO: acetilsalicílico. Responsável técnico Ronoel Caza de Dio. Hortolândia: EMS, 2015. Bula de remédio. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=9023672015&pldAnexo=2891796>. Acesso em: 18 jul. 2017.
- AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia brasileira**. 5. ed. Brasília, 2010a. v. 1.
- AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia brasileira**. 5. ed. Brasília, 2010b. v. 2.
- AGUIAR, E. F. S. et al.. Química Verde: a evolução de um conceito. **Química Nova**, v. 37, p. 1257-261, 2014.
- ANASTAS, P. T.; KIRCHHOFF, M. M. Origins, current status and future challengers of green chemistry. **Accounts of Chemical Research**, v. 35, p. 686-694, 2002.
- ASPIRINA: ácido acetilsalicílico. Responsável técnico Dirce Eiko Mimura. São Paulo: Bayer, 2014. Bula de remédio. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=5475072014&pldAnexo=2115729>. Acesso em: 20 out. 2015.
- BAKAR, S. K.; NIAZI, S. High-Performance Liquid Chromatographic determination of aspirin and its metabolites in plasma and urine. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 72, p. 1020-1023, 1983.
- BEKERSKY, I. et al. Simultaneous determination of salicylic acid and salicyluric acid in plasma and urine by High Pressure Liquid Chromatography. **Analytical Letters**, v. 10, p. 539-550, 1977.
- BRICKS, L. F. Analgésicos, antitérmicos e antiinflamatórios não hormonais: toxicidade – Parte I. **Revista de Pediatria**, v. 20, n. 2, p. 126-136, 1998.
- BRITO, N. M. et al. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 130-146, 2003.
- BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman**. 12. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012.
- CATELANI, T. A. et al. A simple and rapid screening method for sulfonamides in honey using a flow injection system coupled to a liquid waveguide capillary cell. **Talanta**, v. 121, p. 281-287, 2014.
- E SÁ, E. S. Determinação espectrofotométrica de ácido salicílico em produtos dermatológicos. 2006. 38 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Química), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.
- EIRAS, F.; LEITE, L.; MACHADO, M. **Ácido acetilsalicílico**. Porto: Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, 2007. Disponível em: <http://www.ff.up.pt/monografias_toxicologia/monografias/ano0607/aspirina/index.html>. Acesso em: 27 jul. 2016.

ENDO PHARMACEUTICALS. **Percodan**. Chadds Ford, 2010. Disponível em: <http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/007337s046lbl.pdf>. Acesso em: 27 jul. 2016.

FERREIRA, V. J. F. et al. An electrode of the second kind for aspirin determination in tablet formulations. **Analytical Science**, v. 15, p. 249-253, 1999.

FRANCO, M. de O. K.; SUAREZ, W. T.; SANTOS, V. B. dos. Digital image method smartphone-based for furfural determination in sugarcane spirits. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 2, p. 508-515, Feb. 2017.

FRANETA, J. T. et al. HPLC assay of acetylsalicylic acid, paracetamol, caffeine and phenobarbital in tablets. **Il Farmaco**, v. 57, p. 709-713, 2002.

GALUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIESNIK. The 12 principles of green analytical chemistry and the significance mnemonic of green analytical practices. **Analytical Chemistry**, v. 85, p. 78-84, 2013.

GONZÁLEZ, R. R. et al. Food contaminant analysis at high-resolution mass spectrometry: application for the determination of veterinary drugs in milk. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 9353-9365, 2011.

GRIPPE, T. C. AAS, a “droga maravilhosa”. **Revista Ser Médico**, edição 74, jan./mar. 2016. Disponível em: <<http://www.cremesp.org.br/index.php?siteAcao=Revista&id=836>>. Acesso em: 17 jul. 2017.

HARRISSON, L. I.; FUNK, M. L.; OBER, R. E. High-Pressure Liquid Chromatographic determination of salicylsalicylic acid, aspirin, and salicylic acid in human plasma and urine. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 69, p. 1268-1271, 1980.

HEIJST, A. N. P. van.; DIJK, A. van. Acetylsalicylic acid. [S.l.]: International Programme on Chemical Safety, 1991. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/pims/pharm/aspirin.htm>>. Acesso em: 27 jul. 2016.

HUBER, L. Validation of analytical methods: review and strategy. **LC/GC Magazine**, v. 21 p.1-7, 1999.

KOKOT, Z.; BURDA, K. Simultaneous determination of salicylic acid and acetylsalicylic acid in aspirin delayed-release tablet formulations by second-derivative UV spectrophotometry. **Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis**, v. 18, p. 871-875, 1998.

KOUPPARIS, M. A.; ANAGNOSTOPOULOU, P. I. Automated flow injection determination of salicylates using Trinder reaction for clinical analysis, assays and dissolution studies of formulations. **Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis**, v. 6, p. 35-46, 1988.

LAUBE, N.; MOHR, B.; HESSE, A. Laser-probe-based investigation of the evolution of particle size distributions of calcium oxalate particles formed in artificial urine. **Journal of Crystal Growth**, v. 233, p. 367-374, 2001.

LONG, X.; CHEN, F.; DENG, M. Determination of salicylic acid in human serum and urine samples by High-Performance Liquid Chromatography with post-column $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ - $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ Chemiluminescence Detection. **Analytical Science**, v. 29, p. 227-231, 2013.

- LOPES, R. O. M. **Aspirina**: aspectos culturais, históricos e científicos. 2011. 45 f. Trabalho de conclusão de curso (Licenciatura em Química) – Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2011.
- MACHADO, A. A. S.C. Da gênese ao ensino da Química Verde. **Química Nova**, v. 34, p. 535-543, 2011.
- MASSABNI, A. C. Um velho medicamento com novos usos. **Conselho Regional de Química – IV Região**. 2006. Disponível em: <http://www.crq4.org.br/quimica_viva__aspirina>. Acesso em: 17 jul. 2017.
- MATIAS, F. A. A.; VILA, M. M. D. C.; TUBINO, M. Quantitative reflectance spot test for the determination of acetylsalicylic acid in pharmaceutical preparations. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 2, p. 327-330, 2004.
- MEDEIROS, E. G.; DORNELAS, B. A. F. Hepatotoxicidade: uma revisão de literatura sobre os anti-inflamatórios não-hormonais. **Revista Acadêmica Multidisciplinar da Faculdade de Patos de Minas**, v. 4, n. 4, p. 105-120, 2012.
- MENEGATTI, R.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J. A importância da síntese de fármacos. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n. 3, p. 16-22, 2001.
- MOTA, D. M. et al. Perfil da mortalidade por intoxicação com medicamentos no Brasil, 1996 – 2005: retrato de uma década. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 17, n. 1, p. 61-70, 2012.
- OTERO, M.; GRANDE, C. A.; RODRIGUES, A. E. Adsorption of salicylic acid onto polymeric adsorbents and activated charcoal. **Reactive and Functional Polymers**, v. 60, p. 203-213, 2004.
- PEÑA, R. et al. Screening of aflatoxins in feed samples using a flow system coupled to capillary electrophoresis. **Journal of Chromatograph A**, v. 967, p. 303-314, 2002.
- PULGARÍN, J. A. M.; MOLINA, A. A.; ROBLES, I. S. F. Simultaneous determination of salicylic acid and salicylamide in biological fluids. **Spectrochimica Acta**, v. 79, p. 909-914, 2011.
- RANG, H. P. et al. **Rang & Dale**: farmacologia. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.
- SALIPRIN: ácido acetilsalicílico. Responsável técnico Rafaella C. A. Chimiti. Anápolis: GEOLab, 2014. Bula de remédio. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=9657612014&pIdAnexo=2283532>. Acesso em: 20 out. 2015.
- SENA, R. C. et al. A simple method based on the application of a CCD camera as a sensor to detect low concentrations of barium sulfate in suspension. **Sensors**, v. 11, p. 864-875, 2011.
- SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES TÓXICO-FARMACOLÓGICAS. **Dados de intoxicação**. Disponível em : <<http://sinitox.iciet.fiocruz.br/dados-nacionais>> Acesso em: 11 jan. 2016.
- THOMSON, M.; ELLISON, S. T. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis. **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 835-855, 2002.

TORRIERO, A. A. J. et al. Voltammetric determination of salicylic acid in pharmaceuticals formulations of acetylsalicylic acid. **Talanta**, v. 62, p. 247-254, 2004.

TRINDER, P. Rapid determination of salicylate in biological fluids. **Biochemistry Journal**, v. 57, p. 301-303, 1954.

VALCÁRCEL, M.; CÁRDENAS, S.; GALLENÓ, M. Sample screening systems in analytical chemistry. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 18, p. 685-694, 1999.

VANE, J. R.; BOTTING, R. M. **Aspirin and other salicylates**. London: Chapman & Hall, 1992.

YIP, L.; JASTREMSKI, M. S.; DART, R. C. Salicylate intoxication. **Journal of Intensive Care Medicine**, v. 12, n. 2, p. 66-78, 1997.