

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO – UFMA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA - CCET
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA – DEQUI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA - PPGQUIM

GUILHERME AZEVEDO DE SENA

**NOVO MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DO FÁRMACO 5-
FLUOROURACIL NA PRESENÇA DE ALFA-CICLODEXTRINA**

SÃO LUÍS – MA

2024

GUILHERME AZEVEDO DE SENA

**NOVO MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DO FÁRMACO 5-
FLUOROURACIL NA PRESENÇA DE ALFA-CICLODEXTRINA**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, como requisito para obtenção do título de Mestre em Química.

Área de concentração: Química

SÃO LUÍS – MA

2024

Azevedo de Sena, Guilherme.

NOVO MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DO FÁRMACO 5-
FLUOROURACIL NA PRESENÇA DE ALFA-CICLODEXTRINA : NOVO
MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DO FÁRMACO 5-
FLUOROURACIL NA PRESENÇA DE ALFA-CICLODEXTRINA / Guilherme
Azevedo de Sena. - 2024.

68 f.

Orientador(a): Rita de Cássia Silva Luz.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Química/ccet, Universidade Federal do Maranhão, São Luís -
Ma, 2024.

1. Eletroanalítica. 2. 5-flu. 3. Eletrodo de Ddb. 4.
. 5. . I. Silva Luz, Rita de Cássia. II. Título.

GUILHERME AZEVEDO DE SENA

NOVO MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DO FÁRMACO 5-
FLUOROURACIL NA PRESENÇA DE ALFA-CICLODEXTRINA

Dissertação apresentada ao programa de Pós-
Graduação em Química da Universidade Federal
do Maranhão – UFMA, como requisito para

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Cícero Wellington Brito Bezerra (UFMA)

Profa. Dra. Isaide Araújo Rodrigues (UFMA)

Profa. Dra. Rita de Cássia Silva Luz

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela saúde, sabedoria, e por ter me guiado em minha jornada pessoal e acadêmica.

A minha mentora e orientadora, a prof.^a Rita de Cássia Silva Luz, que transformou minha percepção da química e foi a força motriz por trás da conclusão do meu curso de pós-graduação.

Ao professor Flávio, agradeço pelas lições valiosas durante a minha jornada de pós-graduação no LABS.

Aos meus pais e amigos do LABS pela confiança e incentivo que me deram durante a realização do meu curso de pós-graduação.

Aos meus amigos mais uma vez em especial o Ricky de la Martini Pereira da Penha e o Sakae Yotsumoto Neto, pelos incentivos nas horas difíceis.

Agradeço a UFMA pela estrutura e equipamentos para realização deste trabalho.

Expresso minha profunda gratidão ao CNPq pelo financiamento recebido, à UFMA e a todos os que contribuíram direta ou indiretamente para o meu trabalho.

Obrigado a todos!

RESUMO

O 5-Fluorouracil (5-FLU) é um dos fármacos mais utilizados no tratamento do câncer, uma doença caracterizada pela proliferação desenfreada de células anormais. Esta doença é uma das principais causas de óbitos no mundo, com destaque para o câncer de mama e colorretal. Neste contexto, considerando a importância deste fármaco para o tratamento do câncer propõe-se o desenvolvimento de um novo método analítico para sua determinação. Para tanto, utilizou-se um eletrodo de diamante dopado com boro – DDB como eletrodo de trabalho e uma ciclodextrina, Alfa-Ciclodextrina (α -CD), para melhorar a detecção de 5-FLU. Nesse sentido, o método proposto apresentou uma maior corrente de pico para o analito na presença de α -CD, em comparação à sua resposta na ausência desta biomolécula, devido supostamente a formação de um complexo de inclusão (5-FLU: α -CD). As medidas foram realizadas utilizando-se Voltametria Cíclica (VC), sob a otimização dos parâmetros avaliados, tais como concentração de α -CD, pH e Eletrólito de suporte para a obtenção da curva analítica. Os resultados obtidos para as análises do fármaco, na presença de α -CD, mostraram um desvio padrão relativo, DPR, igual a 2,38% para medidas realizadas em diferentes dias, o que sugere estabilidade e reprodutibilidade satisfatórias do material na superfície do eletrodo de DDB. O método proposto apresentou duas curvas analíticas para determinação de 5-FLU na presença de 4 mM L⁻¹ de α -CD: uma de 50 a 2.000 μ M e outra de 3000 a 6000 μ M. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram 8,52 μ M e 28,40 μ M, respectivamente. O método foi aplicado para determinação de 5-FLU em amostras de urina artificial, apresentando valor médio de recuperação do analito de 97,5%.

Palavras-chaves: Eletroanalítica, 5-FLU, Eletrodo de DDB

ABSTRACT

5-Fluorouracil (5-FLU) is one of the most used drugs in the treatment of cancer, a disease characterized by the unbridled proliferation of abnormal cells. This disease is one of the main causes of death in the world, especially breast and colorectal cancer. In this context, considering the importance of this drug for the treatment of cancer, it is proposed to develop a new analytical method for its determination. To this end, a boron-doped diamond electrode – DDB was used as a working electrode and a cyclodextrin, Alpha-Cyclodextrin (α -CD), for better detection of 5-FLU. In this sense, the proposed method presented a higher peak current for the analyte in the presence of α -CD, compared to its response in the absence of this biomolecule supposedly due to the formation of an inclusion complex (5-FLU: α -CD). The measurements were carried out using Cyclic Voltammetry (VC), optimizing the evaluated parameters, such as α -CD concentration, pH and supporting electrolyte to obtain the analytical curve. The results obtained for drug analysis in the presence of α -CD showed a relative standard deviation, DPR, equal to 2.38% for measurements carried out on different days, which suggests satisfactory stability and reproducibility of the material on the surface of the DDB electrode. The proposed method presented two analytical curves for 5-FLU determination in the presence of 4 mM of α -CD: one from 50 to 2,000 μ M and the other from 3000 to 6000 μ M. The limits of detection (LD) and quantification (LQ) of 8.52 μ M and 28.40 μ M, respectively. The proposed method was applied to determine 5-FLU in artificial urine samples, presenting average recovery value of 97,5%

Keywords: Electroanalytical, 5-FLU, DDB Electrode

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido Ascórbico
AC	Ácido Cítrico
α -CD	α -Ciclodextrina
AMP	Ampicilina
AU	Ácido Úrico
b	Inclinação ou coeficiente angular da reta
BR	Tampão Britton-Robinson
CD	Ciclodextrina
DDB	Diamante Dopado com Boro
DPR	Desvio Padrão Relativo
EA	Eletrodo Auxiliar
E_{pa}	Potencial de pico anódico
E_{pc}	Potencial de pico catódico
ER	Eletrodo de Referência
ET	Eletrodo de trabalho
5-FLU	5-Fluorouracil
I_{pa}	Corrente de pico anódico
I_{pc}	Corrente de pico catódico
MCV	Tampão MacIlvein
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
PBS	Tampão Fosfato-Monobásico
Sd	Desvio padrão de 10 medidas do branco
VC	Voltametria cíclica

LISTAS DE EQUAÇÕES

Para sistemas irreversíveis

$$I_{pa} = (2,99 \times 10^5) n(1 - \alpha)^{1/2} n_{\alpha} A D^{1/2} C v^{1/2}$$

Randles-Sevcik

$$I_p = (2,69 \times 10^5) n^{3/2} A_E D^{1/2} C v^{1/2}$$

Limite de Detecção

$$LD = \frac{3 \times Sd_{10}}{b}$$

Limite de Quantificação

$$LQ = \frac{10 \times Sd_{10}}{b}$$

Para o cálculo de recuperação

$$\%RECUPERAÇÃO = \frac{[FLU] ENCONTRADA}{[FLU] ESPERADA} \times 100$$

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Estrutura química do agente quimioterápico 5-FLU (A) e da base nitrogenada uracila (B).....	19
Figura 2:	Mecanismo de reação de oxidação de 5-FLU, segundo Ebrahimian et al., (2023).....	20
Figura 3:	Número crescente de publicações envolvendo CDs do ano de 1995 a 2020.....	23
Figura 4:	Estrutura representativa das Ciclodextrinas.....	23
Figura 5:	Representação visual de ligações rotativas (marcadas em círculos pretos com uma única ponta de seta).....	24
Figura 6:	Estrutura representativa da α -CD.....	25
Figura 7:	Estrutura representativa da conformação em cadeira para uma unidade de glicose.....	26
Figura 8:	Estrutura representativa da α -CD e a formação de um complexo de inclusão.....	27
Figura 9:	Representação esquemática do funcionamento da célula eletroquímica.....	30
Figura 10:	Voltamogramas obtidos para diferentes velocidades de varredura na presença de ferricianeto ($5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$).....	32
Figura 11:	Gráfico da corrente de pico anódico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura para o ferricianeto (dados obtidos da Figura 10).....	32
Figura 12:	Gráfico da corrente de pico catódica em função da raiz quadrada da velocidade de varredura para o ferricianeto (dados obtidos da Figura 10).....	33
Figura 13:	Voltamogramas cíclicos: (a) referentes a oxidação de 5-FLU, com ausência da α -CD, nas seguintes faixas de concentrações: 100, 200, 300, 400, 500, μM em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PBS, pH 7,0 e $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$; (b) Gráfico de corrente versus concentração do 5-FLU.....	36
Figura 14:	Voltamogramas referentes a: oxidação de 5-FLU na ausência da α -CD ou β -CD (VC em azul); corrente de pico de 5-FLU na presença da β -	

	CD (VC em azul claro) e oxidação 5-FLU na presença de 4 mM de α -CD. Experimentos conduzidos em 0,1 mol L ⁻¹ de PBS, pH 7,5, na presença do fármaco. $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$	37
Figura 15:	Voltamogramas referentes a diferentes concentrações de α -CD na ausência de 5-FLU. Experimentos conduzidos em 0,1 mol L ⁻¹ de PBS, pH 7,5. $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$	38
Figura 16:	Voltamogramas obtidos para diferentes concentrações de 5-FLU, com um potencial de pico de +1,4 V, na presença de α -CD. As concentrações utilizadas foram: (a) 1 mM; (b) 2 mM; (c) 3 mM; (d) 4 mM e (e) 5 mM. Os Experimentos foram conduzidos em 0,1 mol L ⁻¹ de PBS, pH 7,5 e $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$	39
Figura 17:	Gráficos de correntes de pico para diferentes concentrações do 5-FLU empregando-se α -CD em: (a) 1 mM; (b) 2 mM; (c) 3 mM; (d) 4 mM; (e) 5 mM e (f) Curvas analíticas obtidas para 5-FLU na presença de α -CD.....	40
Figura 18:	Gráfico para a corrente obtida com 500 μM de 5-FLU em função das diferentes concentrações 1, 2, 3, 4 e 5 mM de α -CD.....	41
Figura 19:	Influência de diferentes eletrólitos de suporte na resposta da corrente de pico (I_p) para o 5-FLU/ α -CD. Experimentos em 0,01 mol L ⁻¹ de PBS, pH 8,5 e $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$ (média dos três últimos voltamogramas).....	43
Figura 20:	Voltamogramas cíclicos referentes ao estudo de variação de pH para 5-FLU/ α -CD.....	44
Figura 21:	Voltamogramas da variação de pH em função do potencial de oxidação do fármaco. Inserção: Gráfico de corrente de pico em função do pH. Dados obtidos dos VC da Figura 21. Experimentos conduzidos em 0,1 mol L ⁻¹ de PBS, contendo 200 μM de 5-FLU e 4 mM de α -CD.....	45
Figura 22:	Estudo da variação de pH em função do potencial de oxidação do fármaco. Experimentos conduzidos em 0,1 mol L ⁻¹ de PBS, contendo	

	200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de 5-FLU e 4 mmol L^{-1} de α -CD.....	46
Figura 23:	Voltamogramas cíclicos obtidos para a resposta da oxidação do 5-FLU /o estudo de velocidade. Foram realizadas medidas em 0,1 mol L^{-1} de PBS, pH 8,5, contendo 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de 5-FLU e 400 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de α -CD com v variando de 10 até 100 mV s^{-1} (média dos três últimos voltamogramas).....	47
Figura 24:	Gráfico de corrente em função da raiz quadrada da velocidade de varredura para a oxidação do 5-FLU/ α -CD. Experimentos conduzidos em 0,1 mol L^{-1} de solução tampão contendo 500 μM do fármaco e 4 mM do α -CD. $v = 0,01$ a $0,1 \text{ V s}^{-1}$	48
Figura 25:	Gráfico de potencial em função da raiz quadrada da velocidade de varredura para a oxidação do 5-FLU/ α -CD. Experimentos conduzidos em 0,1 mol L^{-1} de solução tampão contendo 500 μM do fármaco e 4 mM do α -CD. $v = 0,01$ a $0,1 \text{ V s}^{-1}$	49
Figura 26:	Relação linear do $\ln I_{\text{pa}}$ vs. $\ln v$ obtida para o 5-FLU. Medidas realizadas em 0,1 mol L^{-1} de PBS, pH 8,5, contendo 500 μM de 5-FLU na presença de 4 mM de α -CD e em $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$	50
Figura 27:	(a) Voltametria de varredura linear e (b) Curvas analíticas referentes a oxidação de 5-FLU na presença de α -CD e nas seguintes faixas de concentrações: 50, 100, 500, 1000, 1500, 2000, 3000, 4000, 5000 e 6000 μM em 0,1 mol L^{-1} de PBS, pH 8,5. $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$	51
Figura 28:	Estudo de possíveis interferentes na detecção do fármaco em estudo. Experimentos conduzidos em 0,1 mol L^{-1} de PBS, pH 8,5, com as seguintes substâncias: Cloreto de sódio (NaCl); Ácido Úrico (AU); Ácido Cítrico (AC); Ampicillin (AMP) e Ácido Ascórbico (AA), todos na presença de 500 μM de 5-FLU e 4 mM de Alfa-Ciclodextrina. (α -CD).....	54
Figura 29:	(a) Voltamogramas obtidos para 500 μM de 5-FLU e 4 mM da α -CD, em 0,1 mol L^{-1} de PBS, pH 8,5 e $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$. (b) Avaliação da	

repetibilidade das medidas realizadas no mesmo dia a partir do quinto ciclo estável (dados obtidos da figura 29a)..... 55

Figura 30: (a) resposta do método eletroquímico com o eletrodo de DDB na presença de 500 μM de 5-FLU e 4 mM da $\alpha\text{-CD}$, obtidos em diferentes dias, em 0,1 mol L^{-1} de PBS, pH 8,5 e $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$. (b) Avaliação da reprodutibilidade das medidas, em dias diferentes, para o eletrodo de DDB em 0,1 mol L^{-1} de PBS, pH 8,5, contendo 500 μM de 5-FLU na presença de 400 μM da ACD e $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$ (dados obtidos da figura 30a)..... 56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Parâmetros otimizados com as respectivas faixas de variação e valores padrões empregados para o estudo de otimização na determinação de 5-FLU na presença da α -CD.....	42
Tabela 2:	Avaliação da repetibilidade das medidas realizadas em 0,1 mol L ⁻¹ de PBS contendo 500 μ mol L ⁻¹ de 5-FLU.....	55
Tabela 3:	Avaliação da reprodutibilidade das medidas obtidas com eletrodo de DDB, em 0,1 mol L ⁻¹ de PBS pH 8,5, contendo 500 μ mol L ⁻¹ de 5-FLU e $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$	57
Tabela 4:	Deteccção de 5-FLU em amostras de urina artificiais através do método de calibração externa.....	58

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	OBJETIVOS.....	17
2.1	Objetivo Geral.....	17
2.2	Objetivos específicos.....	17
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	18
3.1	Agente quimioterápico no combate ao câncer: 5-fluorouracil.....	18
3.2	Utilização da eletroquímica para determinação do 5-FLU.....	21
3.3	Ciclodextrinas – CDs.....	22
3.3.1	Propriedades físicas e químicas da α -ciclodextrina.....	26
3.3.2	Encapsulamento do fármaco FLU em ciclodextrinas.....	28
3.4	Eletrodo de diamante dopado com boro (DDB) para oxidação eletroquímica.....	28
4	EXPERIMENTAL.....	29
4.1	Reagentes e soluções.....	29
4.2	Determinação da área ativa do eletrodo de DDB.....	31
4.3	Otimização dos parâmetros experimentais do método eletroquímico proposto.....	34
4.4	Aplicação do método proposto em amostras de urina artificial	34
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1	Avaliação do comportamento voltamétrico do fármaco 5-FLU na ausência e presença de ciclodextrina.....	36
5.2	Influência do tampão sobre corrente de pico do analito.....	42
5.2.2	Influência do pH sobre a corrente de pico do 5-FLU na presença de α -CD.....	44
5.2.3	Estudo da influência da velocidade de varredura.....	47
5.4	Obtenção da Curva analítica.....	51
5.5	Estudo de interferentes.....	53
5.6	Avaliação da precisão do método eletroquímico.....	54
5.7	Aplicação do método proposto em amostras de urina artificial.....	57
6	CONCLUSÃO.....	59
	REFERÊNCIAS.....	60