



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO (UFOP)
CURSO DE FARMÁCIA



JERONIMO GERALDO FERREIRA JÚNIOR

**ESTUDO ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA DOSAGEM DE LEVODOPA E
CARBIDOPA**

TRABALHO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Ouro Preto, julho de 2018

**ESTUDO ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA DOSAGEM DE LEVODOPA E
CARBIDOPA**

Trabalho apresentado como requisito
parcial para a Conclusão do Curso de
Bacharelado em Farmácia da
Universidade Federal de Ouro Preto.

Orientadora: Ângela Leão Andrade
Coorientadora: Katia Júlia de Almeida

Ouro Preto, julho de 2018

F368e Ferreira Júnior, Jeronimo Geraldo .
Estudo espectrofotométrico de levodopa e carbidopa [manuscrito] /
Jeronimo Geraldo Ferreira Júnior. - 2018.

32f.: il.: color; tabs.

Orientador: Prof. Dr. Ângela Leão Andrade.

Monografia (Graduação). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de
Farmácia. Departamento de Farmácia.

1. Medicamentos. 2. Doença de Parkinson. 3. Espectrometria. I. Andrade,
Ângela Leão. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

CDU: 615.2

Catálogo: ficha@sisbin.ufop.br

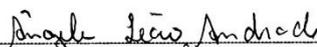


MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP
Escola de Farmácia

TERMO DE APROVAÇÃO

ESTUDO ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA DOSAGEM DE LEVODOPA E CARBIDOPA

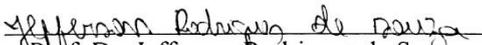
Trabalho de conclusão de Curso defendido por **JERÔNIMO GERALDO FERREIRA JÚNIOR**, matrícula 12.2.2128 em 02 de julho de 2018, e aprovado pela comissão examinadora:



Profa. Dra. Angela Leão Andrade
Orientadora, DEQUI-ICEB-UFOP



Prof. Dr. Maurício Xavier Coutrim
DEQUI-ICEB-UFOP



Prof. Dr. Jefferson Rodrigues de Souza
DEQUI-ICEB-UFOP

DEDICATÓRIA

A Deus por me abençoar, à minha família, à Carla, à Ângela, pela extensão de sua paciência e orientação, por todos os mestres e trabalhadores da UFOP. Muito obrigado.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela benção do ensejo de me graduar.

À minha família, pelo apoio incondicional e amor.

À Ângela que acreditou em mim e, graças à sua orientação, pude encontrar cooperação, companheirismo e fonte de muito aprendizado, pela maneira objetiva, simples e humilde de trabalho para comigo.

À Carla, cuja presença em minha vida sempre me inspira e consola.

Aos amigos, pela compreensão em momentos que precisei me afastar.

À Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), por tanto subsídio dispensado e, por fim, aos seus trabalhadores, com os quais me tornei alguém melhor.

EPÍGRAFE

“Se cheguei até aqui, foi porque me apoiei em ombros de gigantes.”

Isaac Newton

RESUMO

Garantir a segurança dos fármacos, constitui uma atividade de saúde pública com implicações importantes. Desse modo, para obter um efeito terapêutico considerável, em detrimento dos efeitos adversos e toxicidade, é imprescindível controlar os níveis dos princípios ativos presentes nos medicamentos. Haja vista a levodopa e a carbidopa serem os princípios ativos mais encontrados em medicamentos para o tratamento da Doença de Parkinson, e visto que essa doença acomete cerca de 1% da população mundial, percebe-se a importância da determinação desses dois princípios ativos. Considerável trabalho tem sido feito para suas detecções e quantificações simultâneas em preparações farmacêuticas. Objetivando uma forma barata, prática e simples, nesse trabalho procuramos dosar levodopa e carbidopa juntas, em uma tentativa de simular medicamentos comerciais, por meio da espectrometria na região do ultravioleta-visível (UV-VIS). Para isso, alguns reagentes, a exemplo do hidróxido de sódio (NaOH), foram testados junto aos princípios ativos, a fim de permitir tal dosagem.

Palavras chaves : Carbidopa, Levodopa, Espectrofotometria UV-VIS, Doença de Parkinson.

ABSTRACT

Ensuring the safety of drugs is a public health activity with important implications. In order to achieve a considerable therapeutic effect, to the detriment of adverse effects and toxicity, it is essential to control the levels of the active principles present in the medicines. In view of Levodopa and Carbidopa being the most active principles found in medicines for the treatment of Parkinson's disease, and since this illness affects about 1% of the world's population, it is perceived the importance of determining these two principles active. Considerable work has been done for their detections and simultaneous quantification in pharmaceuticals. Aiming at a cheap, practical and simple form, some reagents, the example of sodium hydroxide (NaOH), were tested with the active principles in order to shift the spectra of both, using, for this, spectrophotometric techniques in the region of the Ultraviolet.

Keywords: Carbidopa, Levodopa, Spectrophotometer, Parkinson's disease

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Espectro na região do UV-VIS de carbidopa e levodopa, ambas a 10 mg.L^{-1} em HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$	4
Figura 2 - Oxidação dos princípios ativos pelo hidróxido de sódio (NaOH).	10
Figura 3 - Espectro de absorção da: a) carbidopa, b) levodopa, ambas a 10 mg.L^{-1} em HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, depois de 1, 3, 5, 7, e 9 min de reação com a solução de NaOH $4,5 \text{ mol.L}^{-1}$	11
Figura 4 - Espectros na região UV-VIS da carbidopa $2,7 \text{ mg/L}$ solubilizada em H_3PO_4 $0,82 \text{ mol/L}$, após adição de: (a) 2, (b) 4, (c) 6, (d) 8, e (e) 10 mL de NaOH 2 mol/L . Em cada figura estão mostrados espectros feitos após diferentes tempos de reação do NaOH com a carbidopa.	12
Figura 5 - Espectros na região UV-VIS da levodopa solubilizada em H_3PO_4 $0,82 \text{ mol/L}$, após adição de: (a) 2, (b) 4, (c) 6, (d) 8, e (e) 10 mL de NaOH 2 mol/L . Em cada figura estão mostrados espectros feitos após diferentes tempos de reação do NaOH com a levodopa.....	14
Figura 6 – Curva de calibração da Carbidopa.	16
Figura 7- Curva de calibração da Levodopa.....	17
Figura 8 – Curva de calibração com adição de padrão em Carbidopa.	17
Figura 9 - Curva de calibração com adição de padrão em Levodopa.....	18
Figura 10 – Obtenção de absortividade molar da Carbidopa.	19
Figura 11 - Obtenção de absortividade molar da Levodopa.....	19
Figura 12 – Curva de calibração com adição de padrão com pH controlado para Levodopa.	20
Figura 13 - Obtenção da equação da reta para a solução de Levodopa, com adição de padrão.	20
Figura 14 - Curva de calibração com adição de padrão com pH controlado para Carbidopa.	21
Figura 15 - Obtenção da equação da reta para a solução de Carbidopa com padrão interno.	21

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO -----	1
2	OBJETIVO GERAL -----	2
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -----	3
4	PARTE EXPERIMENTAL -----	6
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	9
6	CONCLUSÃO -----	22
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	23

1 INTRODUÇÃO

A monitorização e avaliação da segurança dos fármacos constituem uma atividade de saúde pública com profundas implicações. Assim, para obter um melhor efeito curativo e menor toxicidade é muito importante controlar os níveis dos princípios ativos presentes nos medicamentos. Uma vez que a levodopa e a carbidopa são os princípios ativos mais encontrados em medicamentos para o tratamento da doença de Parkinson, e visto que essa doença acomete cerca de 1% da população mundial, percebe-se facilmente a importância da determinação desses dois princípios ativos. Considerável trabalho tem sido feito para suas detecções e quantificações simultâneas em amostras biológicas e em preparações farmacêuticas, sendo, para isso, utilizada, por exemplo, a espectrofluorimetria (HONDA, et al. 1983), a cromatografia gasosa (MURPHY, et al. 1976), a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (RIHBANY, e MICHAEL, 1982; DOLEZALOVA e TKACZYKOVA, 1999), e determinação voltamétrica (ARKADANI et al, 2012). Entretanto, muitos desses métodos não são sensíveis o bastante, requerem complicados e caros instrumentos, são sujeitos a interferências de outros íons, ou são utilizados reagentes muito tóxicos na análise. Métodos espectrofotométricos também têm sido usados, mas apresentam algumas desvantagens, como a necessidade de um longo aquecimento (AMAN, et al.,1998), uso de solventes não-aquosos (BIRYUK, et al., 1992), estreitos limites de detecção (MOHAMED e SALEM, 1984) e a sobreposição completa dos espectros, na região do ultravioleta, da levodopa e carbidopa.

Nesse trabalho, começou-se o estudo para a determinação da levodopa e da carbidopa por um novo método, utilizando o espectrofotômetro na região do ultravioleta-visível. Esse método se mostrou simples, rápido, barato e não apresentou as desvantagens encontradas por outros autores, que utilizaram a mesma técnica, citadas anteriormente.

2 OBJETIVO GERAL

Dosar os princípios ativos levodopa e carbidopa, por meio da espectroscopia na região do ultravioleta-visível.

2.1 OBJETIVO ESPECÍFICO

- (1) Reagir os princípios ativos, separadamente, com soluções oxidantes, em uma tentativa de modificar o espectro de pelo menos um deles;
- (2) Construir uma curva de calibração, após a adição de um oxidante à solução contendo os princípios ativos estudados, e dosar a concentração de uma solução de concentração desconhecida;

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A doença de Parkinson, antigamente conhecida como Mal de Parkinson, é conhecida há anos. O termo Mal de Parkinson deixou de ser usado e foi definitivamente abandonado por médicos e pacientes, com o objetivo de reduzir o estigma social e o preconceito contra portadores da doença. É uma síndrome neurodegenerativa e, acredita-se, que apresenta como principal característica patológica a perda dos neurônios dopaminérgicos pigmentados da parte compacta da substância negra (RINNE, 1989). Os neurônios dessa região sintetizam o neurotransmissor dopamina e sua diminuição provoca sintomas motores, podendo também ocorrer depressão, alterações do sono, diminuição da memória e distúrbios do sistema nervoso autônomo. Os principais sintomas motores se manifestam por tremor, rigidez muscular, diminuição da velocidade dos movimentos e distúrbios do equilíbrio e da marcha. Estima-se que a doença atinge um a dois por cento da população mundial com mais de 65 anos (PAIM, 2007) mas, apesar de acometer em geral pessoas idosas, ela pode afetar qualquer pessoa independente do sexo, raça, cor ou classe social (Associação Brasileira de Parkinson). Como a idade é o principal fator de risco para seu desenvolvimento, espera-se que sua prevalência venha a crescer com o aumento da expectativa de vida da população.

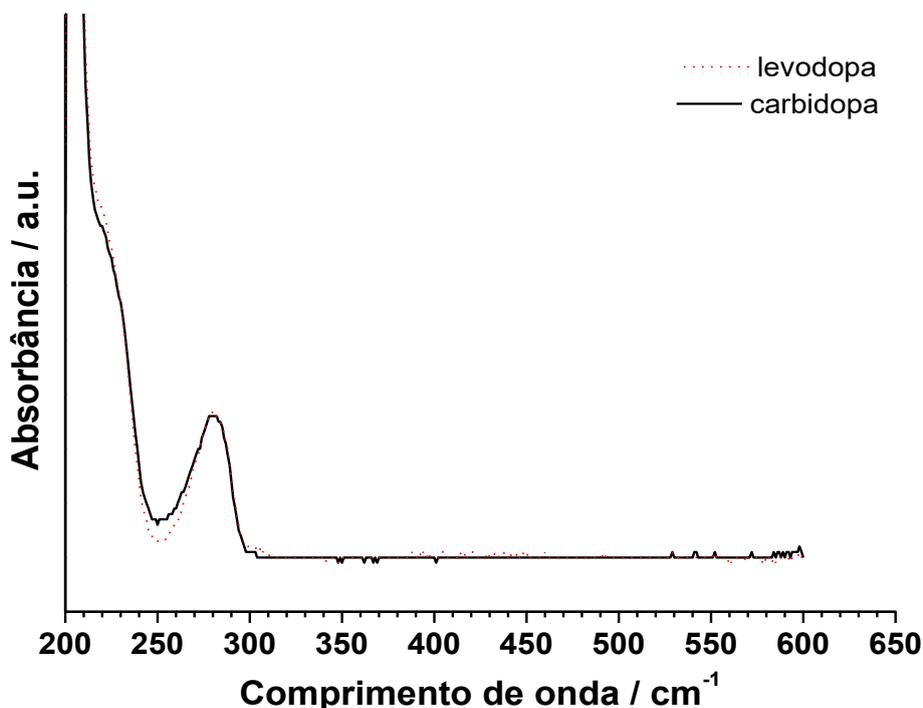
Dentre os tratamentos farmacológicos, a utilização do precursor da dopamina, a levodopa [3-(3,4-diidroxifenil)-L-alanina], continua sendo o mais utilizado. Por via oral, a levodopa é absorvida no duodeno, e, por meio da corrente sanguínea, é transportada até próximo ao cérebro. Ela é capaz de atravessar a barreira hemato-encefálica e, no cérebro, é convertida em dopamina pela ação da enzima dopa descarboxilase (DDC). Entretanto, enquanto está na corrente sanguínea, as enzimas DDC e a Catecol-Orto-MetilTransferase (COMT) podem convertê-la em dopamina e em 3-O-metil-dopa, respectivamente, causando efeitos colaterais como náuseas, vômitos e hipotensão ortostática (FERRAZ, 2004). Essa conversão indevida leva à necessidade de altas dosagens do medicamento para que uma ínfima parcela atinja o sistema nervoso central e o efeito terapêutico esperado aconteça. Esses problemas são resolvidos com o uso de substâncias inibidoras (antagonistas) da DDC, que, por não ser capaz de transpor a barreira cerebral, consegue inibir seletivamente a conversão da levodopa em dopamina fora do cérebro. A carbidopa, ácido [(S)-3-(3,4-diidroxifenil)-2-hidrazino-2-metilpropanóico], é o inibidor da DDC mais frequentemente utilizado em combinação com a levodopa na formulação farmacêuticas atuais para o tratamento da Doença de Parkinson. A utilização desse inibidor reduz em cerca de dez vezes a dose necessária de levodopa, aliviando de maneira geral os seus efeitos colaterais dessa medicação (FERRAZ, 2004).

Para obter melhores efeitos farmacológicos e menor toxicidade, é muito importante controlar a concentração de levodopa e carbidopa em formulações farmacêuticas. Antes disso, é importante encontrar um método para se dosar esses princípios ativos, separadamente.

A técnica analítica mais empregada na dosagem de diferentes substâncias farmacologicamente ativas é a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), mas a levodopa e a carbidopa também têm sido dosadas, por exemplo, por meio de técnicas voltamétricas (ARKADANI et al, 2012) e com o uso de nanosensores (MAZLOUM-ARDAKANI et al., 2012 e 2013, e MOLAAKBARI et al., 2014). Essas técnicas são mais complicadas, exigindo experiência para se executar.

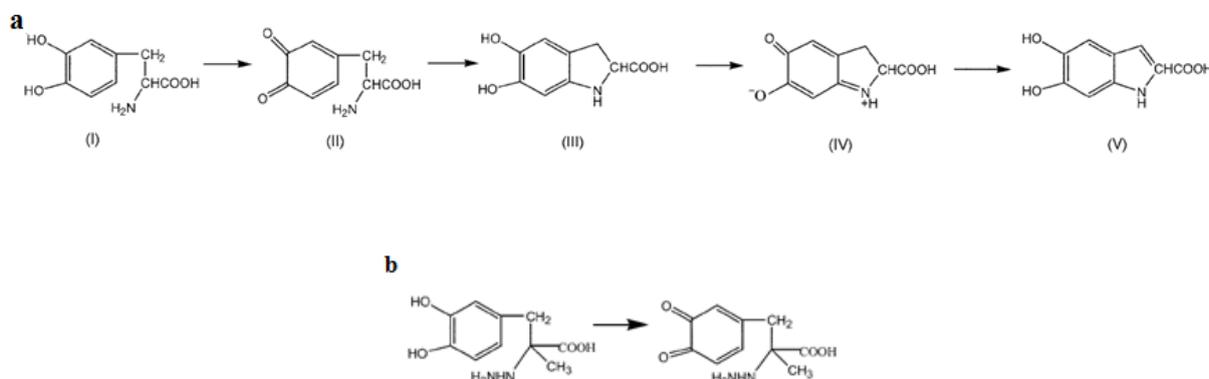
Por causa dessas desvantagens, nesse trabalho propomos fazer a determinação simultânea de levodopa e carbidopa utilizando uma técnica barata, simples e de fácil utilização, a espectrometria na região do ultravioleta-visível (UV-VIS). O grande problema no emprego dessa técnica, para a quantificação desses dois princípios ativos, é que ocorre uma sobreposição total de seus espectros (Figura 1). Para contornar esse problema, MADRAKIAN (2004) modificou o espectro desses princípios ativos, adicionando NaOH, um agente oxidante (Figura 2).

Figura 1 - Espectro na região do UV-VIS de carbidopa e levodopa, ambas a 10 mg.L^{-1} em $\text{HCl } 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$.



Fonte 1 - Própria do autor.

Figura 2: Estruturas de oxidação da: (a) levodopa e (b) carbidopa, após oxidação com NaOH.



Fonte: MADRAKIAN (2004).

Nesse trabalho, tentou-se modificar os espectros testando vários agentes oxidantes. Após escolher o melhor, a dosagem foi feita com adição de padrão.

A adição de padrão é feita quando possíveis interferentes estão presentes na amostra. Assim, faz-se adição de quantidades crescentes de uma solução padrão, cuja concentração é conhecida, em alíquotas de mesmo volume da amostra. Desse modo, cada solução é diluída para volume fixo em um balão volumétrico, para posteriores medidas de absorvância. Como as substâncias estudadas nesse trabalho apresentam grupos ácidos e básicos, imaginou-se que poderia estar havendo uma reação entre elas, o que tornou a adição de padrão necessária.

Dessa forma, nesse trabalho, estudou-se a dosagem de soluções de carbidopa e levodopa através da espectroscopia UV-VIS, o que, certamente, potencializará, inovará e mesmo viabilizará futuras determinações em formulações farmacêuticas. A dosagem por meio dessa técnica não é nova. Nova foi metodologia utilizada nesse trabalho.

Uma vez obtida e validada, essa técnica permitirá precisar a concentração de uma, e da outra substância química, presentes em formulações comerciais.

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 EQUIPAMENTOS

Para determinação espectrofotométrica dos princípios ativos, utilizou-se Espectrofotômetro (Marca Thermo Scientific – Genesys 840) na região do UV-VIS (400nm – 800nm), balança analítica (modelo AW 33D), ultrassom, medidor de pH (modelo) – pHmetro-, software Excel 2010- para avaliação dos gráficos fornecidos pelo espectrofotômetro, de modo a estabelecer a relação, pela Lei de Beer-Lambert, entre a concentração dos princípios ativos analisados e suas respectivas absorbâncias.

4.2 AMOSTRAS E REAGENTES

Levodopa e Carbidopa foram comprados no comércio local. Os demais reagentes utilizados foram: água destilada, ácido clorídrico (HCl), ácido fórmico (CH₂O₂), ácido acético (CH₃COOH), ácido fosfórico (H₃PO₄) e hidróxido de sódio (NaOH), todos VETEC.

4.3 PROCEDIMENTOS

4.3.1 ESCOLHA DO AGENTE OXIDANTE

Preparou-se soluções mãe dos dois princípios ativos, com concentração 40 mg.L⁻¹. Em alguns experimentos, essa solução foi diluída. Pelo fato de a carbidopa não apresentar boa solubilidade em água, usou-se ácido clorídrico (HCl), com concentração de 0,1 mol L⁻¹, para dissolvê-la. Para padronizar, ele também foi utilizado na preparação da solução de levodopa. Após a adição de HCl, tentou-se modificar os espectros dos dois princípios ativos por meio da adição de vários reagentes, como FeCl₃, KIO₃, H₂O₂, K₂Cr₂O₇, KMnO₄, NaOH, dentre outros, à solução de carbidopa e de levodopa. Dentre todos os testados, o NaOH apresentou o melhor resultado em termos de oxidação, por isso, a partir desse ponto, apenas ele foi empregado.

4.3.2 DOSAGEM

a) NaOH 4,5 mol L⁻¹

Visto que a adição de uma solução de NaOH alterou os espectros dos dois princípios ativos, preparou-se uma curva de calibração contendo soluções com 20 concentrações diferentes, variando de 0,5 à 23 ppm. Para cada solução foram feitos cinco espectros, de dois em dois minutos, até 10 minutos contados a partir da adição de NaOH à solução. O fato dos espectros, de cada concentração, se modificar continuamente com o tempo, fez com que fossem tentados outros solventes para solubilizar os princípios ativos.

b) Ácido fórmico

A 0,18 g de levodopa foi adicionado 0,05 mL de ácido fórmico anidro, em uma tentativa de solubilizá-la. A solução foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL. O mesmo procedimento foi realizado para a carbidopa, sendo a massa de 0,018 g.

c) Ácido fórmico e ácido acético

Nas mesmas massas pesadas, descritas anteriormente, de cada princípio ativo isoladamente, adicionou-se 0,05 mL de ácido fórmico e, depois, ácido acético glacial, de 20 em 20 mL, até 100 mL. Posteriormente, essas soluções foram colocadas em banho-maria, a uma temperatura de 90 °C. Esses procedimentos foram feitos na tentativa de solubilizar os dois princípios ativos. Como a levodopa não solubilizou, a suspensão obtida também foi colocada em ultrassom.

d) Ácido fosfórico

Em consonância com a Farmacopeia Americana, fez-se a solubilização dos princípios ativos em ácido fosfórico (H_3PO_4).

Após a solubilização, foi adicionado NaOH. Foram testados volumes diferentes a fim de saber qual a quantidade mínima de NaOH que provocaria uma alteração no espectro de cada um dos princípios ativos, sem alteração do espectro com o tempo. Foram adicionados 2, 4, 6 e 8 mL de NaOH 2 mol L^{-1} em balões de 10 mL que continham 2 mL da solução 40 mg L^{-1} de princípio ativo solubilizados em H_3PO_4 0,82 mol L^{-1} e o volume completado com água. Foram feitos espectros após 2, 4, 6, 8 e 10 minutos da adição de NaOH na solução do princípio ativo.

Ao se escolher um volume de solução de NaOH 2 mol L^{-1} que deveria ser adicionado às soluções contendo os princípios ativos, novas curvas de calibração foram preparadas. Para isso, adicionou-se volumes crescentes, de 0,2 em 0,2 mL, partindo de um volume de 0,1 mL até um volume de 1,9 mL. Com os dados da absorvância no pico de maior intensidade, foi feito uma curva de calibração, relacionando a absorvância à concentração.

A próxima tentativa foi fazer um ensaio de adição de padrão. Para isso, preparou-se cinco soluções. A essas soluções foi adicionado 1 mL de uma mistura de levodopa e carbidopa e acrescentado, no ensaio da carbidopa, volumes crescentes, correspondendo a soluções com concentração igual à 0; 0,5; 1; 1,5 e 2 vezes a concentração da carbidopa presente na mistura adicionada àquele recipiente. O mesmo foi feito para a dosagem da levodopa.

Devido à impossibilidade de dosagem por esse procedimento, tentou-se fazer as reações em

pH controlado. Para isso, a massa pesada de carbidopa e levodopa foi solubilizada em 0,5 mL de H_3PO_4 e o volume completado para que a concentração final de carbidopa fosse igual à, aproximadamente, 5,5 ppm e, de levodopa, 55 ppm.

Essa solução mãe foi adicionada em tubos Falcon, de 15 mL, de acordo com a Tabela 1, e o procedimento descrito a seguir foi realizado:

Tabela 1 – Volume (mL) e pH

	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5
Volume solução carbidopa	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
pH inicial	2,57	2,35	2,20	2,10	2,02

Fonte 2 - Própria do autor.

Pipetaram-se os volumes descritos na Tabela 1, da solução de carbidopa solubilizada em H_3PO_4 , transferiu-os para tubos Falcon de 15 mL, e adicionou volume de água suficiente para 5 mL. O pH dessa solução foi medido ($pH_{inicial}$). Depois, volumes crescentes de NaOH 1 mol.L⁻¹ foram adicionados até que os tubos, de 1 a 5, alcançassem um pH próximo a 3. Novos tubos foram preparados mas, agora, volumes de NaOH 1 mol.L⁻¹ foram adicionados até que todos os tubos apresentassem pH igual a 11. O mesmo procedimento foi realizado até obter pH igual a 12 e igual a 13. As soluções produzidas foram transferidas para balões volumétricos de 10 mL e o volume foi completado com água. Posteriormente, as soluções foram levadas ao espectrofotômetro. Os mesmos procedimentos foram observados para a Levodopa conforme Tabela 2.

Tabela 2 – Volume (mL) e pH

	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5
Volume solução Levodopa	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
pH inicial	2,40	2,12	2,01	1,95	1,90

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

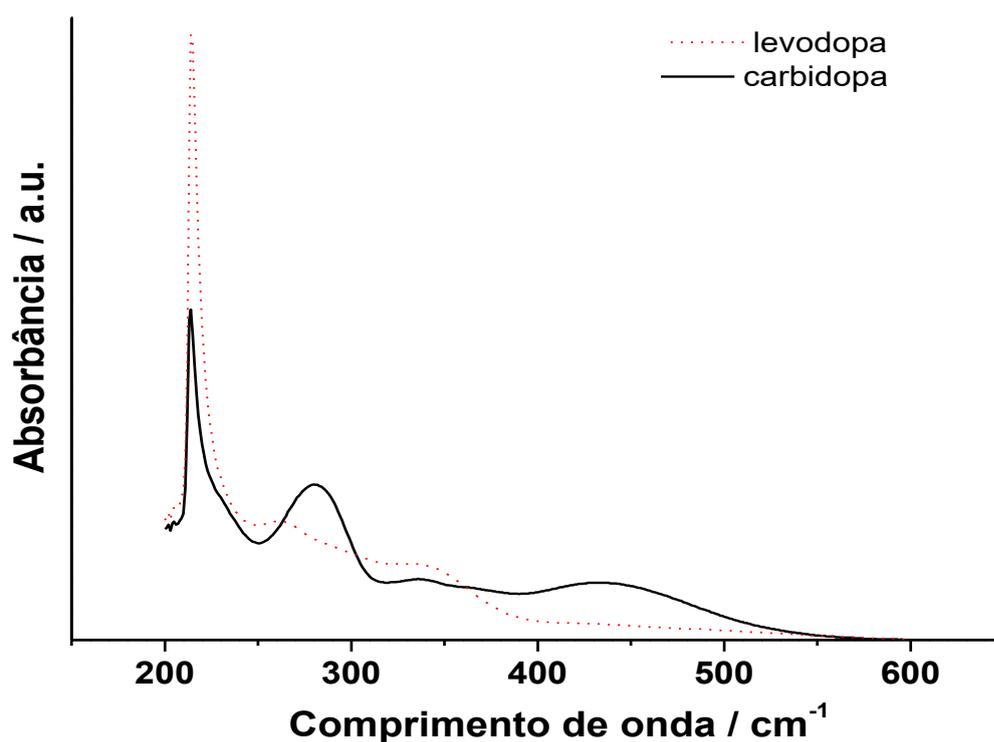
O problema que inspirou esse trabalho foi a dificuldade de determinação simultânea de levodopa e carbidopa, por meio da espectroscopia na região do ultravioleta-visível (UV-VIS) (Figura 1), presentes em formulações farmacêuticas. Essa dificuldade se deve à sobreposição total desses dois princípios ativos, na região estudada. Para contorná-lo, diferentes autores já testaram vários procedimentos, como adição de enzimas, de agentes complexantes, resinas de troca iônica, dentre outros, em soluções contendo levodopa e carbidopa (ARKADANI et al, 2012). Esses procedimentos são relativamente caros, difíceis de serem executados e, alguns deles, utilizam solventes tóxicos. Nesse trabalho propusemos fazer essa dosagem de uma forma simples, por meio da modificação do espectro de um dos reagentes com reagentes comuns e baratos.

5.1.1 ESCOLHA DO AGENTE OXIDANTE

Para modificar o espectro de um, ou dos dois princípios ativos estudados, vários oxidantes foram testados. Dentre todos eles, o único que alterou os espectros foi o NaOH. Os demais não alteraram, ou a cor do próprio oxidante impossibilitou a percepção da alteração.

A oxidação dos princípios ativos pelo hidróxido de sódio (NaOH), resultou em espectros diferentes na região estudada do espectro eletromagnético (Figura 2), possibilitando, em princípio, a determinação dos dois princípios ativos.

Figura 2 - Oxidação dos princípios ativos pelo hidróxido de sódio (NaOH).

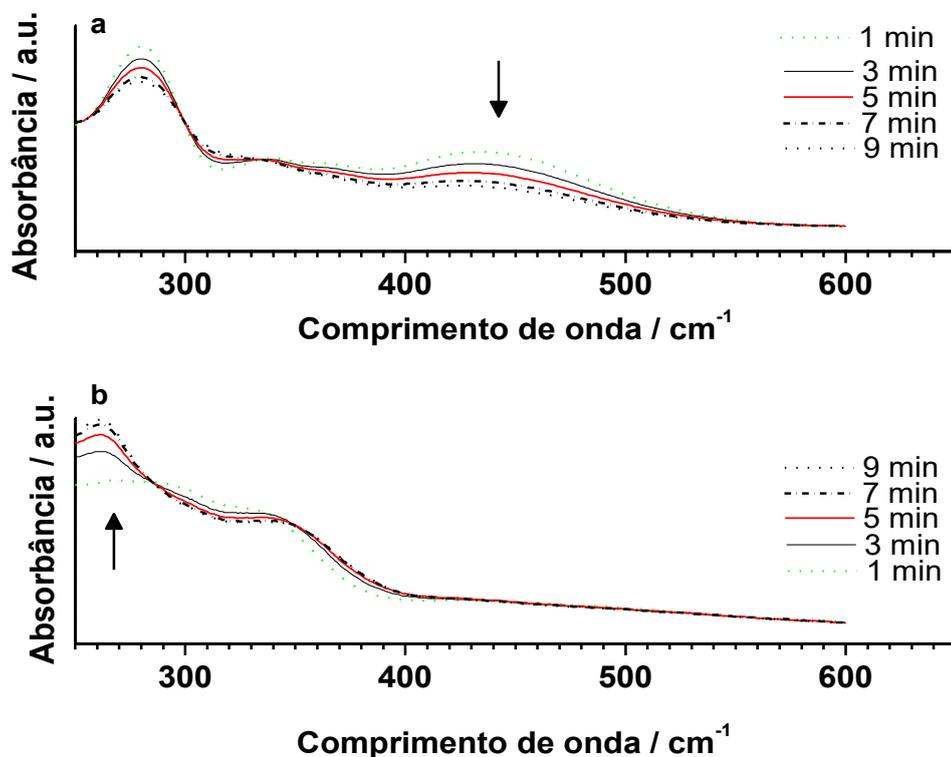


Fonte 3 - Própria do autor.

5.1.2 DOSAGEM

Entretanto, apesar dos espectros terem ficado diferentes após a adição de NaOH, não se conseguiu encontrar a concentração de uma solução de concentração desconhecida, por meio de uma curva de calibração feita com concentrações diferentes de carbidopa, e levodopa, em HCl 0,1 mol.L⁻¹ e NaOH 4,5 mol.L⁻¹. Como pode ser observado na Figura 3, todos os espectros feitos da mesma solução, na mesma concentração, em tempos diferentes, foram diferentes.

Figura 3 - Espectro de absorção da: a) carbidopa, b) levodopa, ambas a 10 mg.L^{-1} em $\text{HCl } 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, depois de 1, 3, 5, 7, e 9 min de reação com a solução de $\text{NaOH } 4,5 \text{ mol.L}^{-1}$.

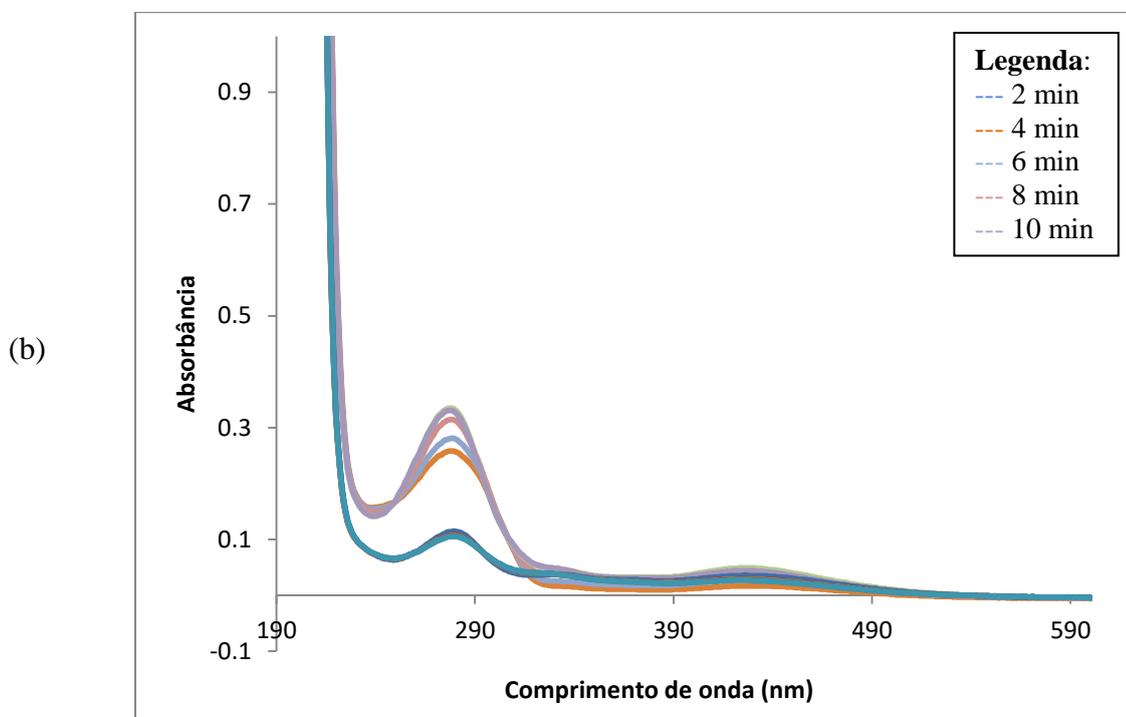
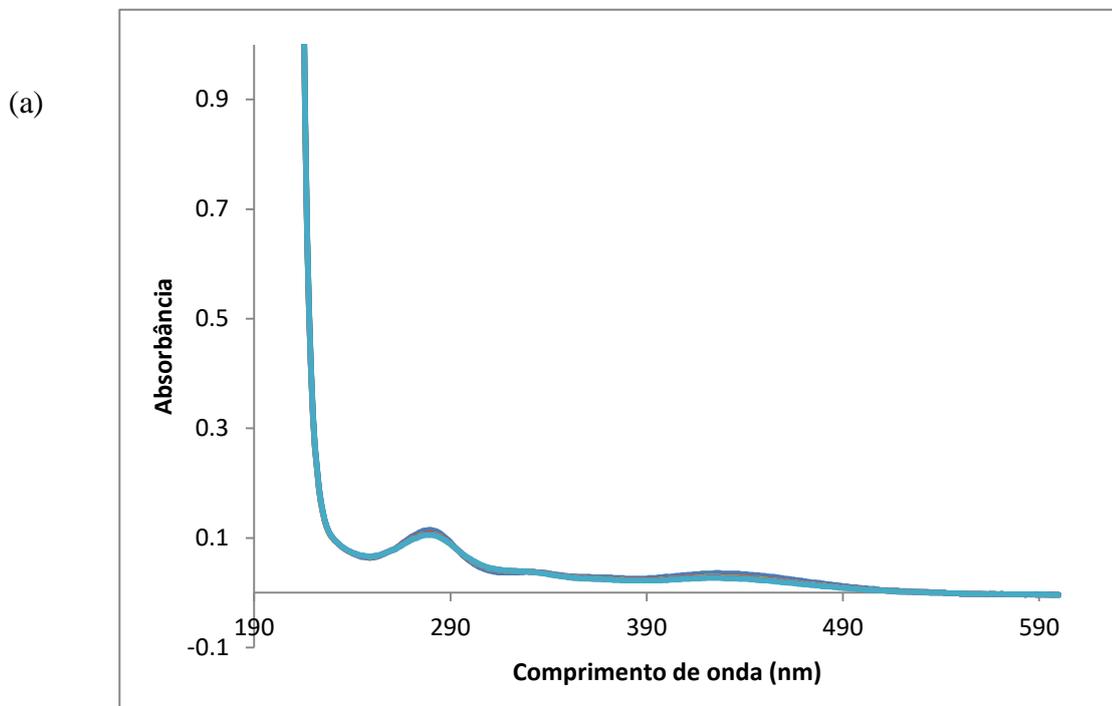


Fonte 4 - Próprio autor.

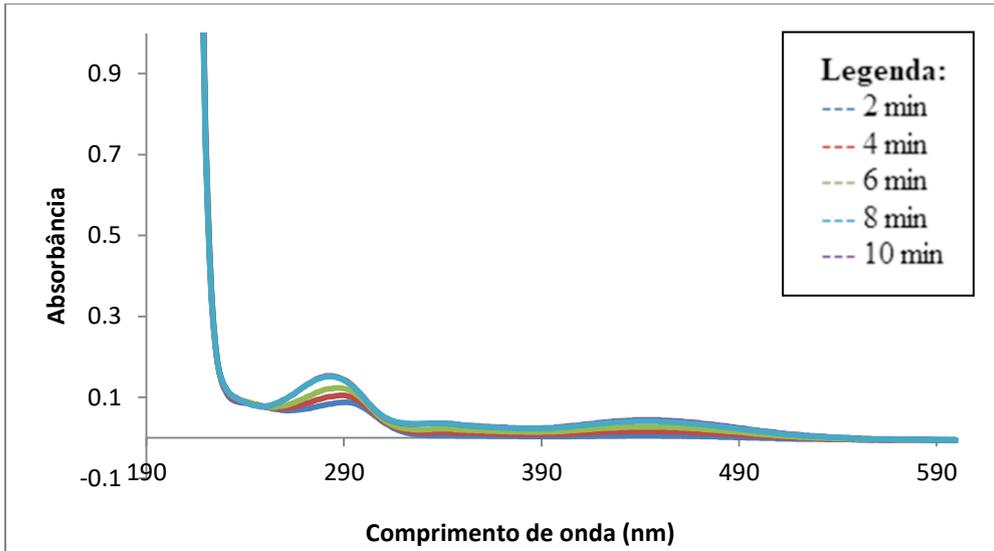
A justificativa que encontramos para essa alteração nos espectros foi que a levodopa não estava se solubilizando totalmente em HCl . Por causa disso, procuramos outros solventes para melhorar essa solubilização. Essa procura foi realizada em diferentes farmacopeias. A Farmacopeia Europeia e a Brasileira preconizam a solubilização apenas da carbidopa, não mencionando a levodopa. A solubilização da carbidopa é realizada com a ajuda de ácido fórmico e ácido acético glacial. Assim, os dois princípios ativos foram colocados em contato com esses ácidos. A levodopa não solubilizou, mesmo com aquecimento e banho de ultrassom, após adição desses ácidos.

A Farmacopeia Americana faz menção aos dois princípios ativos e preconiza a solubilização em ácido fosfórico. Tanto a levodopa, quanto a carbidopa, se solubilizaram nesse ácido. A partir desse momento apenas esse solvente foi utilizado para a solubilização. Apesar de, agora, termos certeza que os dois princípios ativos estavam se dissolvendo, os espectros, de uma mesma solução, continuava se modificando com o tempo. Por causa disso, o próximo passo foi adicionar NaOH e encontrar o volume ideal, capaz de oxidar os dois princípios ativos, sem que ocorresse alteração do espectro com o tempo. Os resultados estão mostrados nas Figuras 4 e 5.

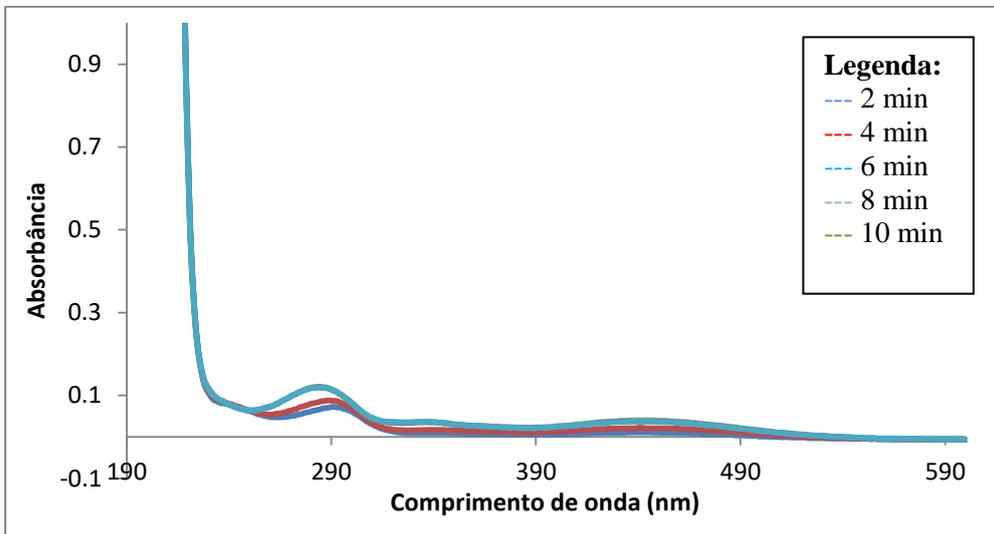
Figura 4 - Espectros na região UV-VIS da carbidopa 2,7 mg/L solubilizada em H_3PO_4 0,82 mol/L, após adição de: (a) 2, (b) 4, (c) 6, (d) 8, e (e) 10 mL de NaOH 2 mol/L. Em cada figura estão mostrados espectros feitos após diferentes tempos de reação do NaOH com a carbidopa.



(c)



(d)



(e)

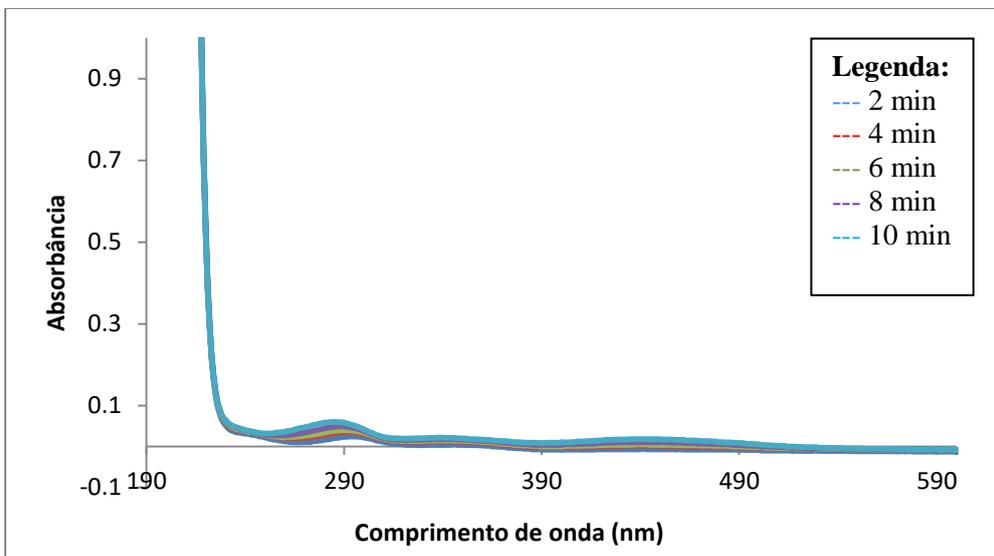
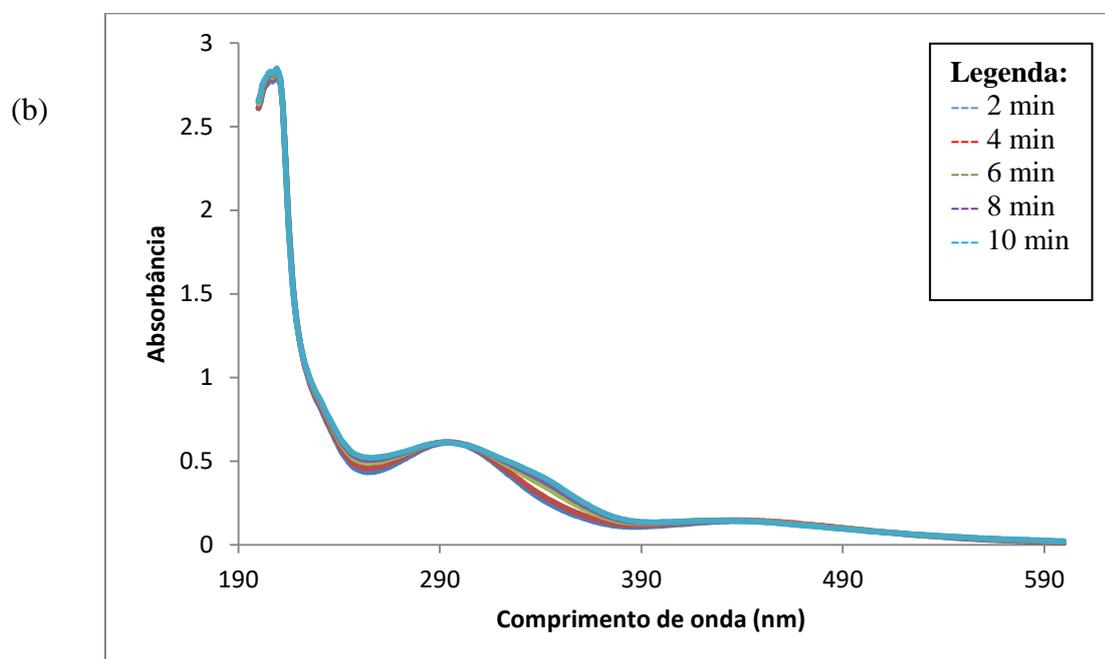
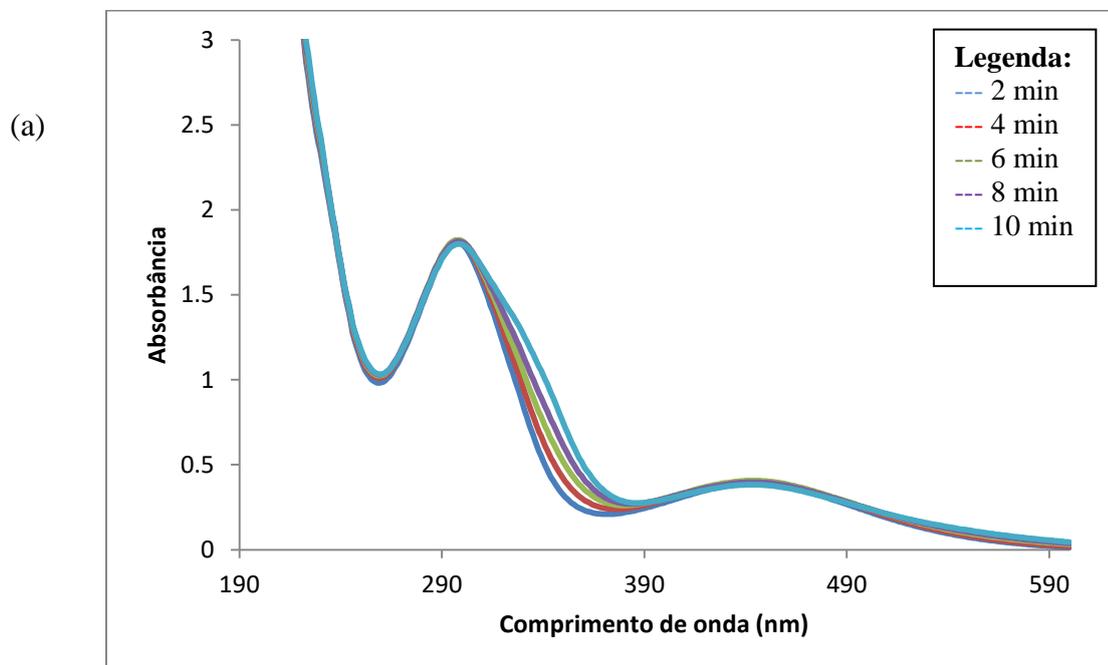
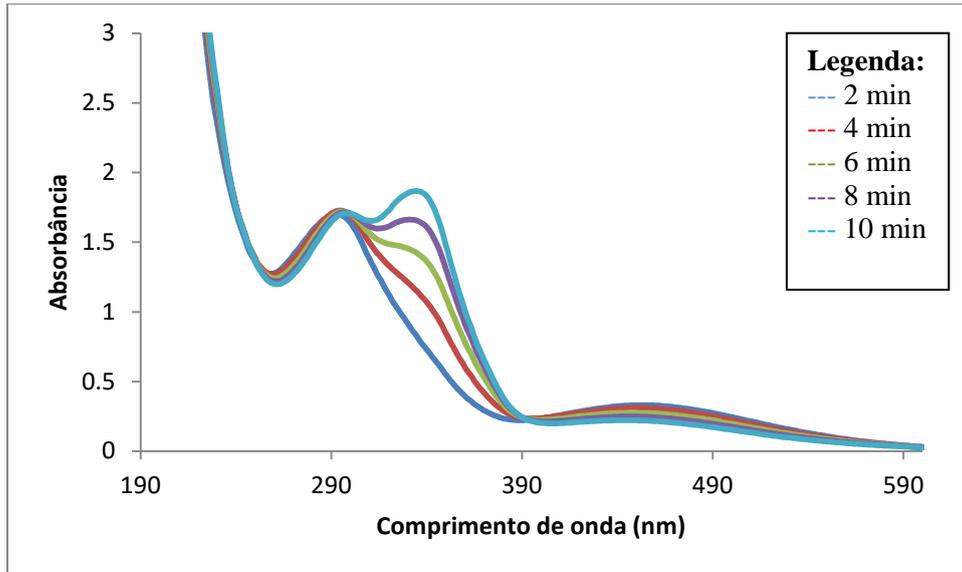


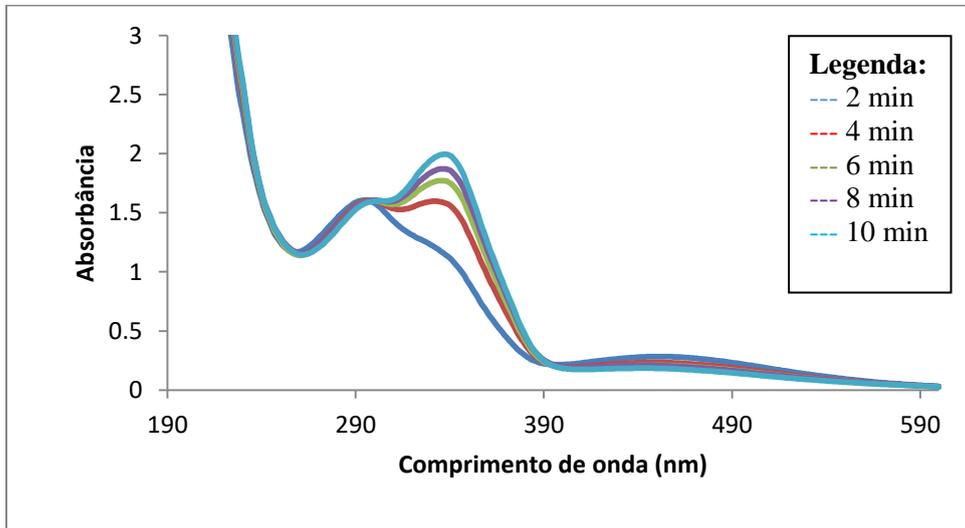
Figura 5 - Espectros na região UV-VIS da levodopa solubilizada em H_3PO_4 0,82 mol/L, após adição de: (a) 2, (b) 4, (c) 6, (d) 8, e (e) 10 mL de NaOH 2 mol/L. Em cada figura estão mostrados espectros feitos após diferentes tempos de reação do NaOH com a levodopa.



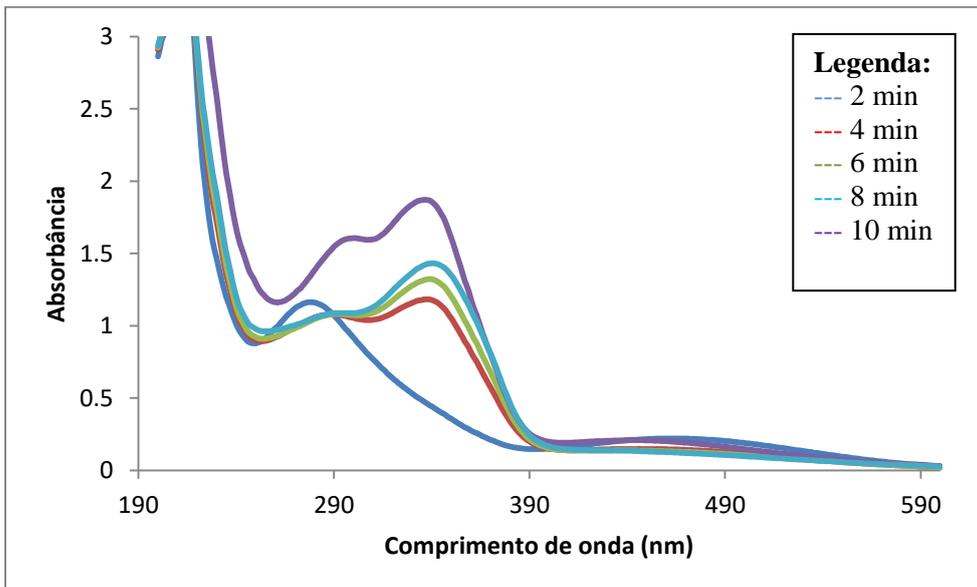
(c)



(d)



(e)



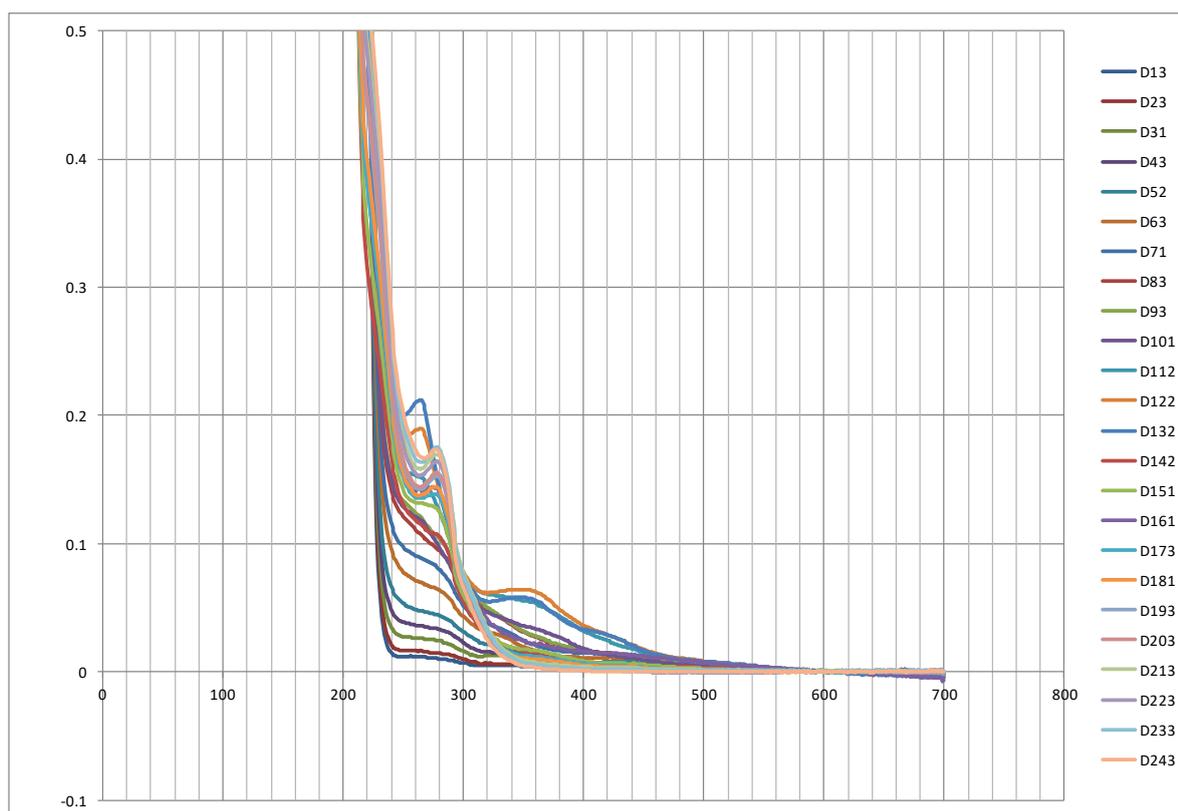
Fonte 5 –Próprio autor.

Pelos espectros das Figuras 4 e 5 pode-se observar que, dependendo do volume de NaOH 2 mol/L adicionado, os espectros das soluções, após diferentes tempos de reação, são diferentes. Salienta-se, ainda, que após a adição de 2 mL de solução de NaOH 2 mol/L, o espectro da levodopa e da carbidopa se mantém constante, independente do tempo. O próximo passo foi construir uma curva de calibração para obtenção das absorvidades molares dos dois princípios ativos.

As soluções da curva de calibração, de cada princípio ativo, foi preparada colocando volumes de 0,1 à 1,9 mL da solução de carbidopa ($5,5 \text{ mg.L}^{-1}$), com incrementos de 0,2 mL, em balões de 10 mL e adicionando 2 mL de NaOH 2 mol.L⁻¹. O mesmo foi feito com a solução de levodopa (55 mg.L^{-1}).

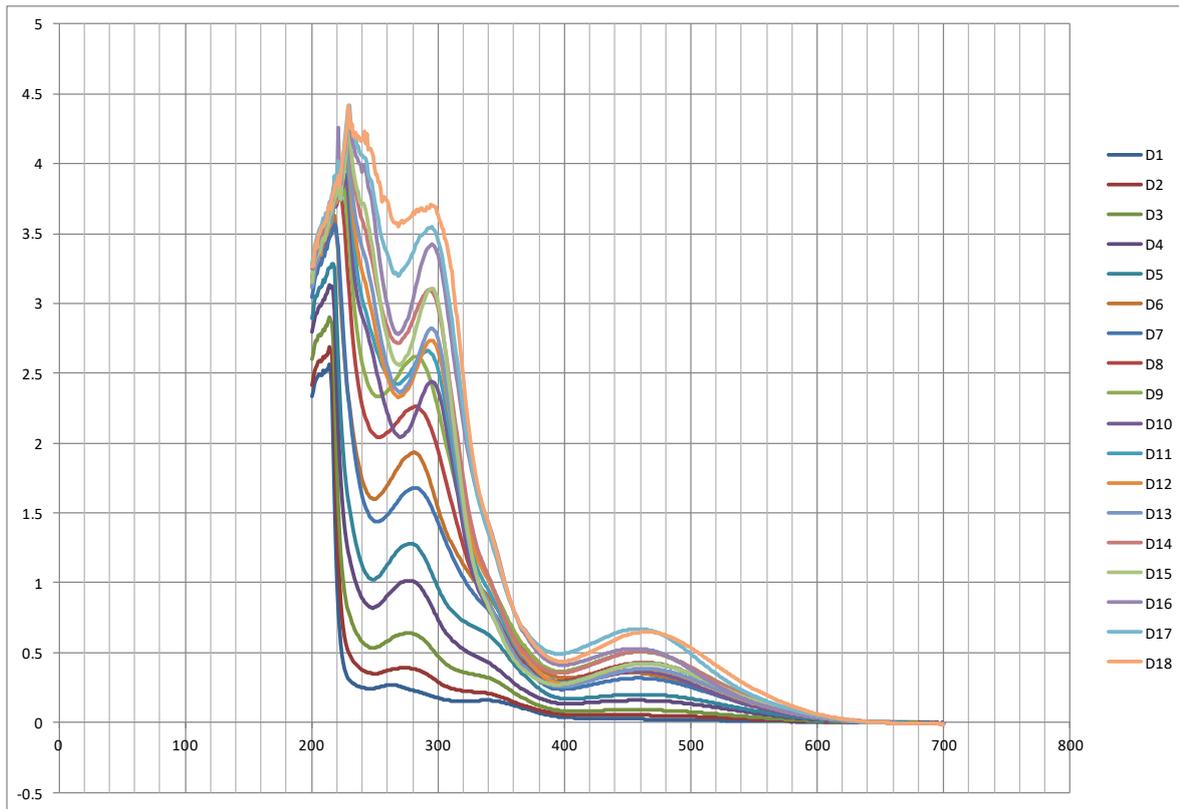
O gráfico da carbidopa encontra-se na Figura 6, enquanto que o da levodopa encontra-se na Figura 7.

Figura 6 – Curva de calibração da Carbidopa.



Fonte 6 – Próprio autor.

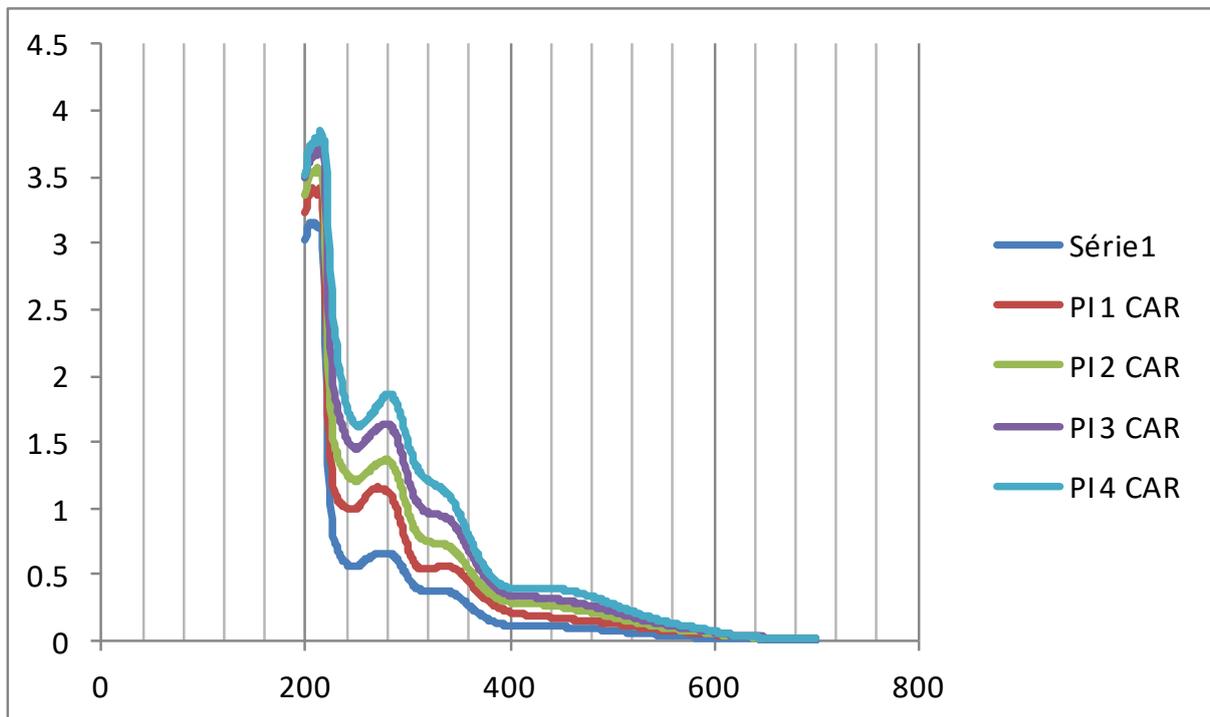
Figura 7- Curva de calibração da Levodopa.



Fonte 7 – Próprio autor.

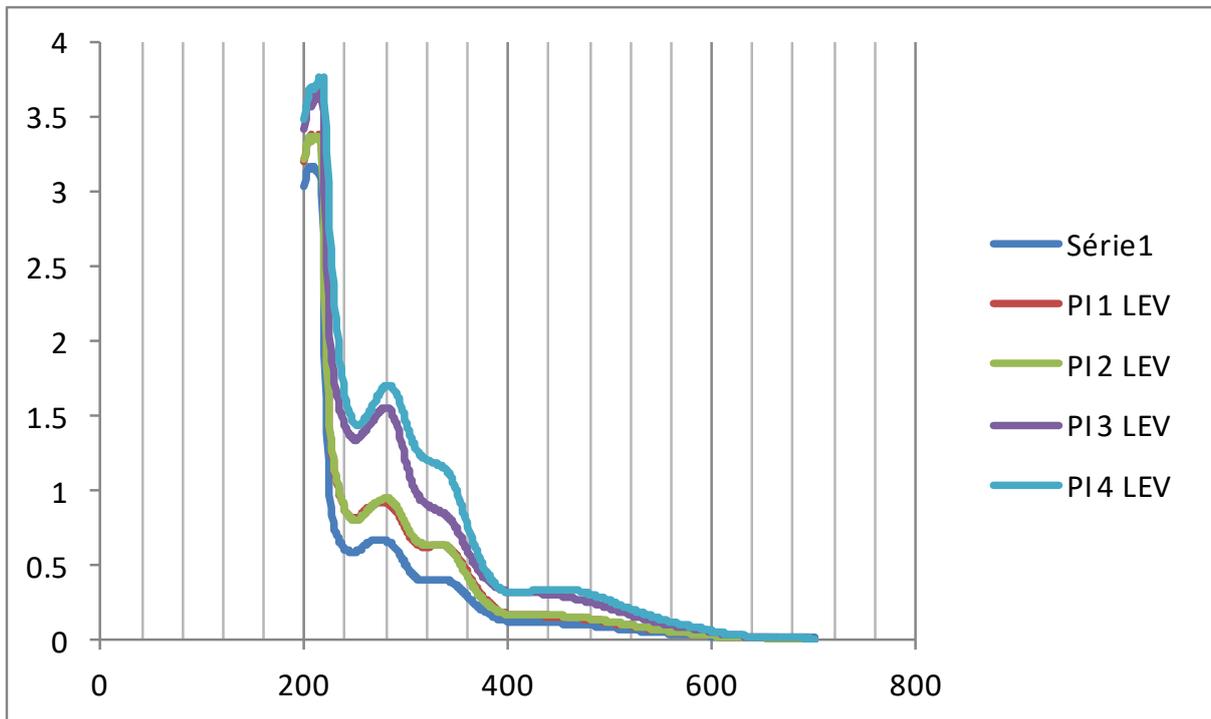
Pode-se verificar que os picos, tanto da carbidopa, quanto da levodopa, se modificam quando a concentração se altera, o que impossibilitou a construção da curva de calibração. A próxima tentativa foi fazer adição de padrão. Foi pensado que, talvez, a levodopa estivesse reagindo com a carbidopa, o que modificaria seus espectros. Os espectros obtidos podem ser visualizados nas Figuras 8 e 9.

Figura 8 – Curva de calibração com adição de padrão em Carbidopa.



Fonte 8 – Próprio autor.

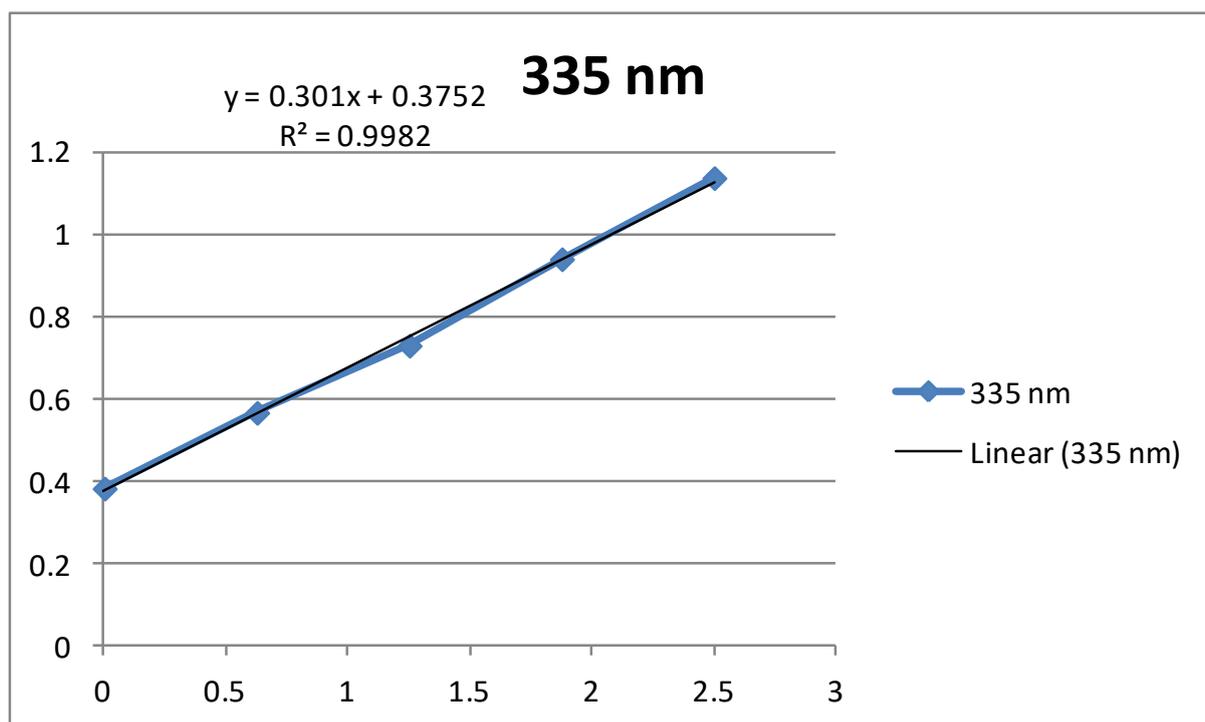
Figura 9 - Curva de calibração com adição de padrão em Levodopa.



Fonte 9 - Próprio autor.

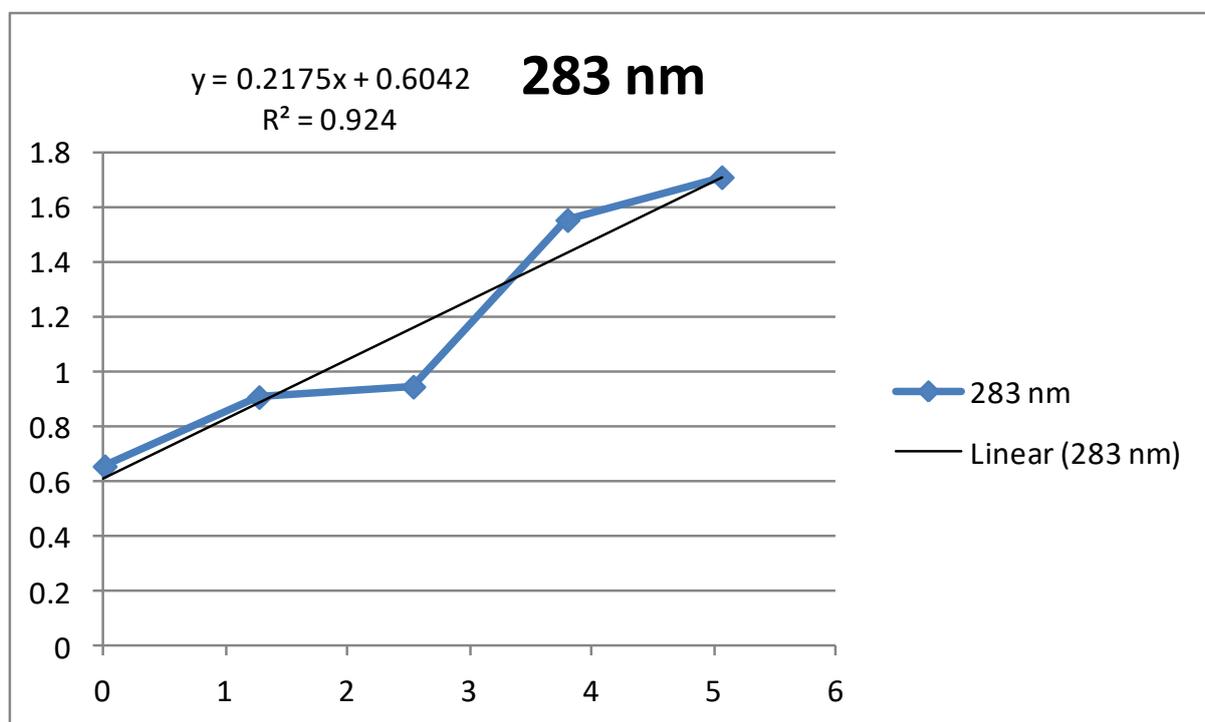
A partir desses espectros obtivemos a curva de calibração relacionando a absorbância dos picos de maior absorvidade, com suas concentrações. Das curvas de calibração calculamos os r^2 . Como pode ser observado da Figura 10, a 335 nm obtivemos um $r^2 = 0.9982$ e uma concentração, para a carbidopa, a partir da equação da reta, de $1,25 \text{ mg.L}^{-1}$, mesmo valor que o real. Para a levodopa, na solução de concentração $2,53 \text{ mg.L}^{-1}$, a partir da equação da reta a 283 nm, encontramos uma concentração de $2,78 \text{ mg.L}^{-1}$, mas o r^2 foi muito ruim (Figura 11).

Figura 10 – Obtenção de absorvância molar da Carbidopa.



Fonte 10 - Próprio autor.

Figura 11 - Obtenção de absorvância molar da Levodopa.

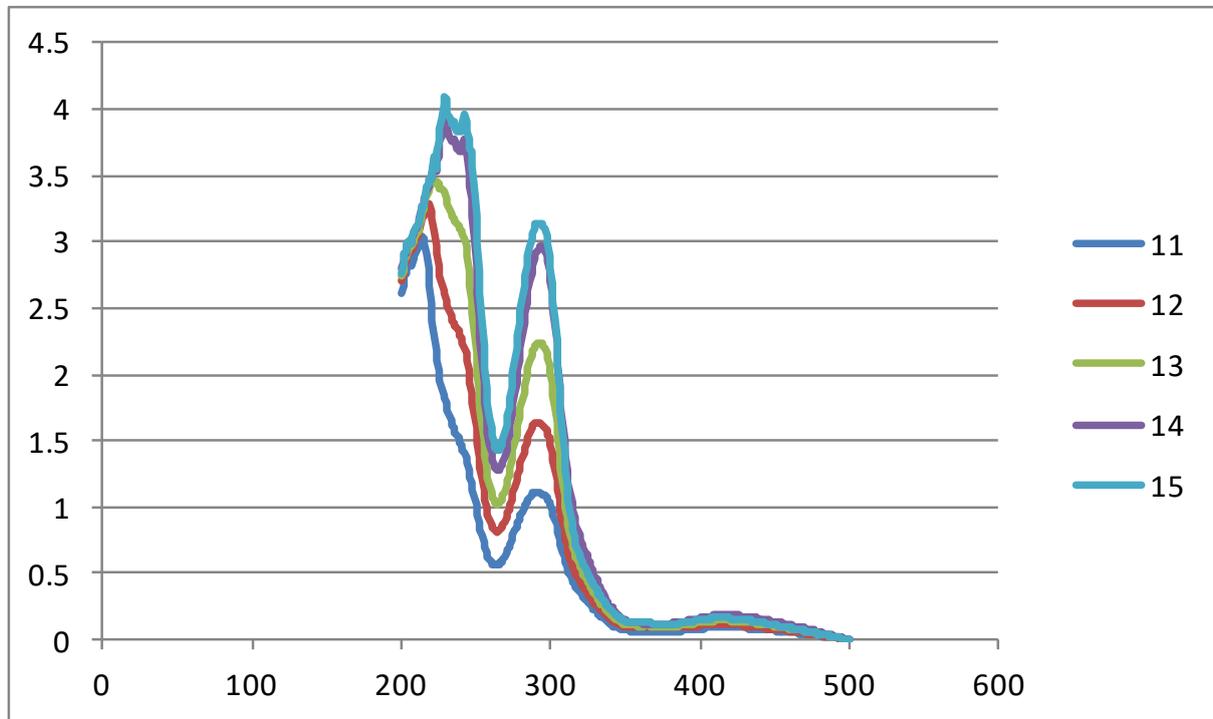


Fonte 11 - Próprio autor.

Devido à impossibilidade de dosagem por esse procedimento, tentou-se fazer as reações em pH controlado. Pelo fato do ensaio com adição de padrão ter fornecido um valor muito próximo ao desejado, novamente preparou-se experimentos com adição de padrão. Os

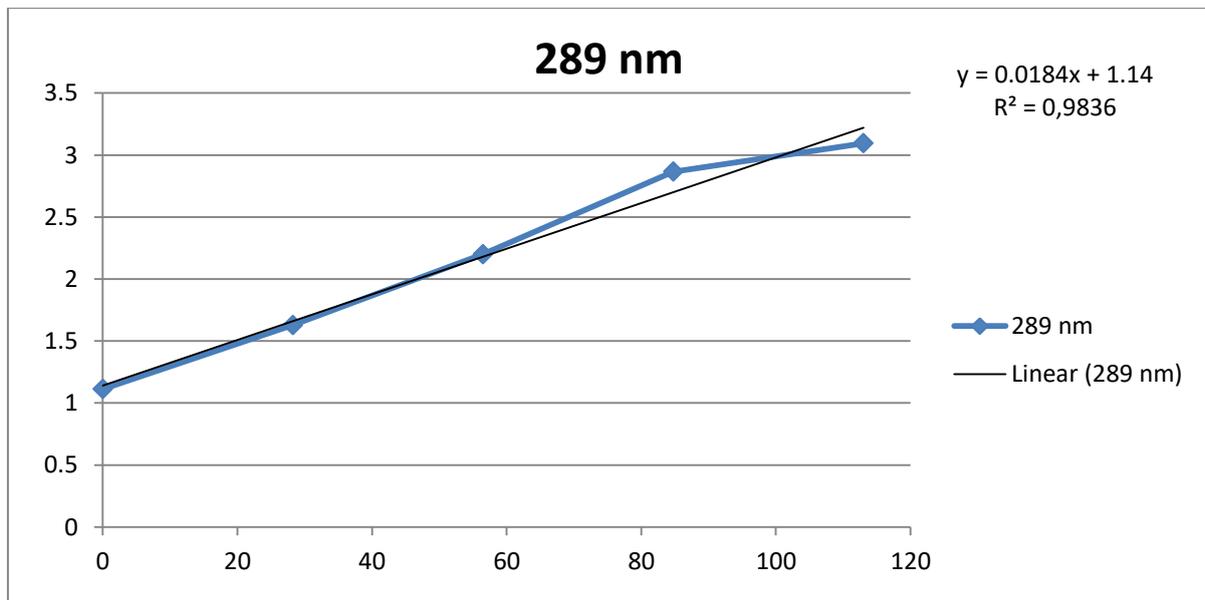
volumes das cinco soluções preparadas e os respectivos pHs estão mostrados na Tabela 1. Os espectros da carbidopa e da levodopa resultantes desse teste são mostrados na Figura 12.

Figura 12 – Curva de calibração com adição de padrão com pH controlado para Levodopa.



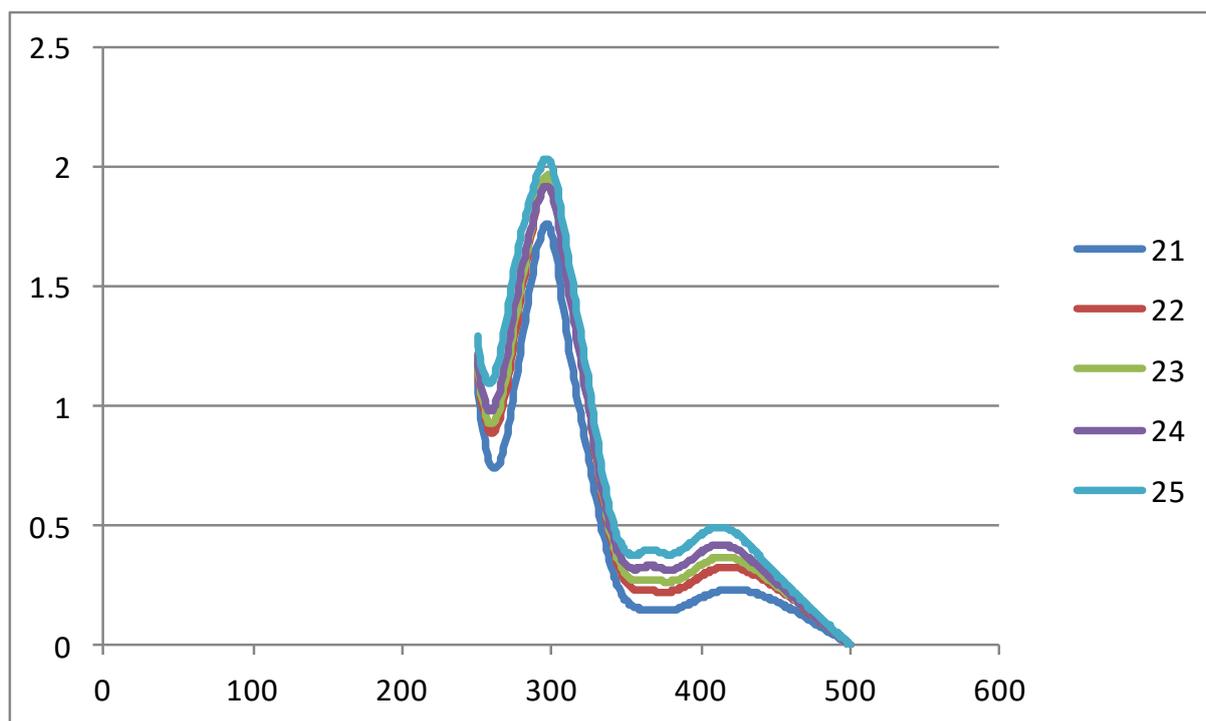
Fonte 12 - Próprio autor.

Figura 13 - Obtenção da equação da reta para a solução de Levodopa, com adição de padrão.



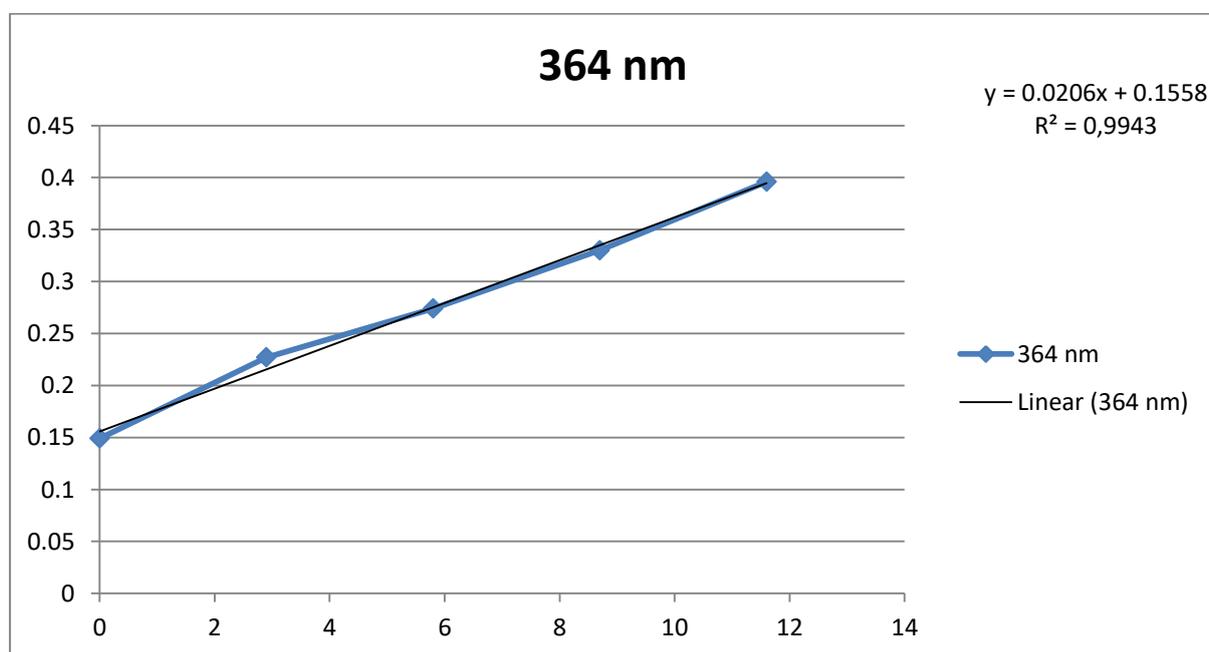
Fonte 13 - Próprio autor.

Figura 14 - Curva de calibração com adição de padrão com pH controlado para Carbidopa.



Fonte 14 - Próprio autor.

Figura 15 - Obtenção da equação da reta para a solução de Carbidopa com padrão interno.



Fonte 15 - Próprio autor.

Pela curva de calibração da levodopa, encontrou-se um valor de 61,9 mg L⁻¹, sendo o valor real igual a 56,5 mg L⁻¹. Já para carbidopa, o valor encontrado foi de 7,56 mg L⁻¹, sendo que o valor real era de 5,8 mg L⁻¹.

6 CONCLUSÃO

Os dados evidenciados mostraram que os espectros foram deslocados, ao se usar o oxidante NaOH. De igual modo, a concentração dos princípios ativos testados foi descoberta e apresentou-se próxima à real. Contudo, novos testes precisam ser realizados a fim de se ter um r^2 mais próximo de 1 e, conseqüentemente, uma concentração ainda mais próxima da real.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARDAKANI, M. M.; SHEIKH-MOHSANI, M. A.; ABDOLLAHI-ALIBEIK, M.; BENVIDI, A; **Analyst**, 2012.

AMAN, T.; KHAN, I.U.; ASLAM, N.; AHMED, I.; **Anal. Lett.** 31:1007,1998.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PARKINSON.

BAUTISTA, R.D.; JIMENEZ, A.I.; JIMENEZ, F.; ARIAS, J.J.; FRESENIUS J. **Anal. Chem.** 357:449; 1997.

BIRYUK, I.A.; PETRENKO, V.V.; ZORYA, B.P.; **Farm. Zh. (Kiev)** 2:57, 1992.

DOLEZALOVA, M.; TKACZYKOVA, M.; **J. Pharm. Biomed. Anal.** 19: 555, 1999.

ELAHE MOLAABARI, ALI MOSTAFAVI, HADI BEITOLLAHI AND REZA ALIZADEH; **Royal Society of Chemistry**.

FERRARO, M.C.F.; CASTELLANO, P.M.; KAUFMAN, T.S.; **J. Pharm. Biomed. Anal.** 30:1121; 2002.

HONDA, S.; ARAKI, Y.; TAKAHASHI, M.; KAKEHI, K.; **Anal. Chim. Acta** 149: 297; 1983.

MADRAKIAN, T.; AFKHAMI, A.; BORAZJANI, M.; BAHRAM, M.; **BULL. Korean Chem. Soc.** 25:1764; 2004.

MOHAMED, W.I.; SALEM, F.B.; **Anal. Lett.** 17:191 (1984).

MURPHY, P.J.; WILLIAM, T.L.; KAU, D.L., **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 199: 423, 1976.

PAIM, C.S. Porto Alegre: UFRG, 2007.

RIHBANY, M.A.; MICHAEL, F.D.; **J. Chromatogr.** 248: 125, 1982.

SENA, M.M.; POPPI, R.J.; **J. Pharm. Biomed. Anal.** 34:27; 2004.

THE UNITED STATES PHARMACOPOEIA; 25a rev., U.S.P. **Convention: Rockville;** 2002.

Declaração de consentimento do orientador

Certifico que o aluno **Jeronimo Geraldo Ferreira Júnior**, autor do trabalho de conclusão de curso intitulado “**ESTUDO ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA DOSAGEM DE LEVODOPA E CARBIDOPA**”, efetuou as correções sugeridas pela banca examinadora e que estou de acordo com a versão final do trabalho.

A handwritten signature in blue ink, reading "Ângela Leão Andrade", is written over a horizontal line.

Ângela Leão Andrade
Orientador (a)

Ouro Preto, 15 de agosto de 2018.