TÉCNICAS DE DERIVATIZAÇÃO

Derivatização

Razões para a derivatização em GC:

- Melhorar a resolução e reduzir "cauda" de compostos polares
- Possibilitar a análise de compostos não voláteis.
- Aumentar a detectabilidade em alguns detectores específicos.
- Facilitar a separação de enantiômeros.
- Confirmar a identidade de um analito (MS).

Grupos funcionais:

-OH
$-NH_2$
-COOH
-SH

Importância em Toxicologia: maioria dos produtos de biotransformação são polares.

Formas de derivatização:

- Extrato seco
- Fase aquosa
- Na fibra (SPME)
- No injetor
- Pós-coluna (HPLC)

Requisitos para um boa derivatização:

- Um único produto deve ser formado para cada composto,
- A reação deve ser simples e rápida,
- A reação deve ocorrer em condições brandas,
- O produto deve ser formado com boa reprodutibilidade,
- O produto deve ser estável no meio da reação.

Principais métodos de derivatização:

- Sililação
- Acilação
- Alquilação

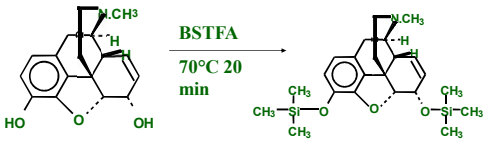
Sililação:

BSTFA com 1% TMCS: trimetilsilil-derivados
- derivados com boa volatilidade
- possibilidade de injeção direta do reagente no GC
- instáveis à umidade (condições anidras)

Capacidade de formar silil-derivados:
- álcool > fenol > ácidos carboxílicos > aminas > amidas

Sililação:

Ex. opiáceos



Acilação:

Reagentes:
- haletos de acila
- anidridos

Grupos funcionais: álcool, amina, amida, tiol, fenol.

Anidridos:
- anidrido acético
- anidrido trifluoroacético (TFA)
- pentafluoropropiônico (PFPA)

Acilação:

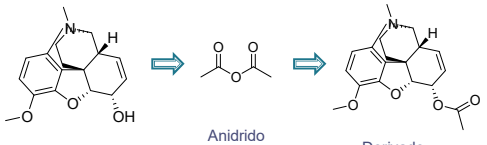
1) Acetilação:

Procedimento:
- evaporar o extrato até secura,
- adicionar 40uL de anidrido acético:piridina (3:2)
- incubar 60°C por 30 minutos
- evaporar o resíduo
- ressuspender em 40uL de metanol
- injetar no GC.

Acilação:

1) Acetilação:

Exemplo:



Codeína — Anidrido acético — Derivado acetilado de codeína

Acilação:

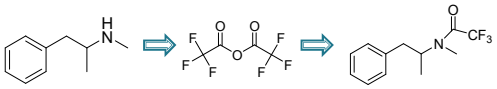
2) Trifluoroacetilação:

Procedimento:
- evaporar o extrato até secura,
- adicionar 40uL de anidrido trifluoroacético (TFAA) e 40uL de acetato de etila
- incubar 60°C por 15 minutos
- evaporar o resíduo
- ressuspender em 40uL de acetato de etila (sem álcool e água)
- injetar no GC.

Acilação:

2) Trifluoroacetilação:

Exemplo:

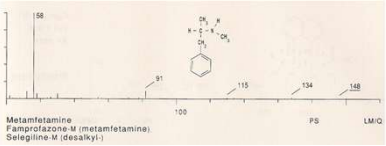


metanfetamina — Anidrido trifluoroacético — Metanfetamina-TFA

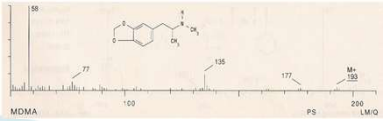
Acilação:

2) Trifluoroacetilação:

metanfetamina



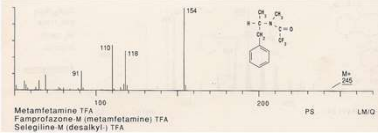
MDMA



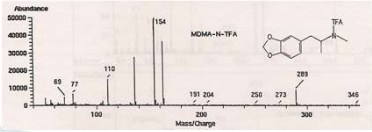
Acilação:

2) Trifluoroacetilação:

Metanfetamina-TFA



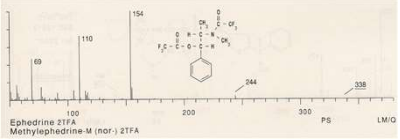
MDMA-TFA



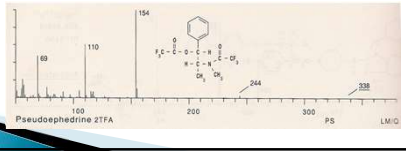
Acilação:

2) Trifluoroacetilação:

Efedrina-2TFA



Pseudoefedrina -2TFA



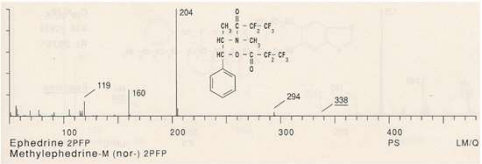
Acilação:

3) Pentafluoropropionilação:

Procedimento:
- evaporar o extrato até secura,
- adicionar anidrido pentafluoropropiônico/ pentafluoropropanol (PFPA/PFP)
- incubar 60ºC por 15 minutos
- evaporar o resíduo
- ressuspender em 40uL de acetato de etila (sem álcool e água)
- injetar no GC.

Acilação:

3) Pentafluoropropionilação:

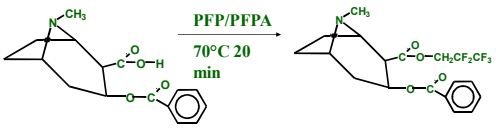


Efedrina-2PFP

Acilação:

3) Pentafluoropropionilação:

Aumento da sensibilidade para detectores ECD e NCI



Benzoilecgonina

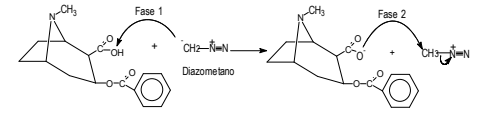
Alquilação:

Grupos funcionais: ácido carboxílico, álcool, tiol, fenol, aminas primárias e secundárias, amida.

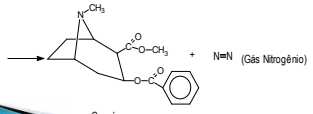
- haletos de alquila (iodometano, iodoetano)
- álcool em meio ácido
- diazoalcanos

Alquilação:

Diazoalcanos:

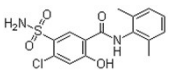


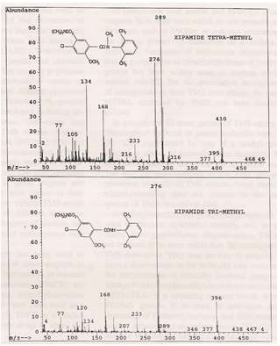
Benzoilecgonina



Cocaína

Múltiplos derivados:





Melhorar resolução cromatográfica:

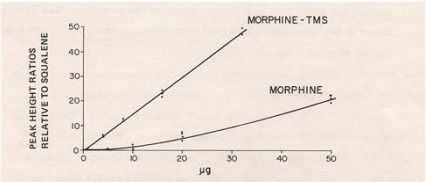


FIGURE 3 – LINEARITY PLOT OF MORPHINE AND THE TMS DERIVATIVE OF MORPHINE

Melhorar resolução cromatográfica:

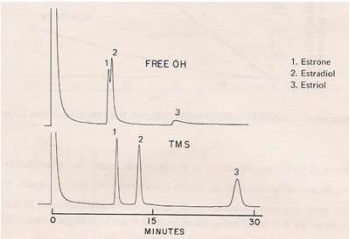
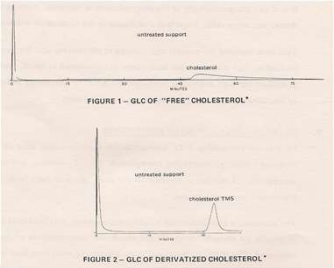


FIGURE 4 – GLC OF "FREE" AND DERIVATIZED ESTROGENS*

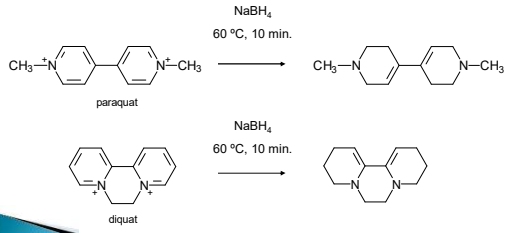
Melhorar formato do pico cromatográfico:



Outras derivatizações:

Redução

Ex. paraquat e diquat



REFERÊNCIAS

1) SEGURA, J.; VENTURA, R., JURADO, C. Derivatization procedures for gas chromatographic-mass spectrometric determination of xenobiotics in biological samples, with special attentio to drugs of abuse and doping agents. J. Chormat. B, 713, p.61-90, 1998.
2) WELLS, R.J. Recent advances in non-silylation techniques for gas chromatography. J. Chromatogr. A, 843, p.1-18, 1999.
3) HUSEK, P. Chloroformates in gas chromatography as general purpose derivatizing agents. J. Chromatogr. B, 717, p.57-91, 1998.
4) PFLEGER, K.; MAURER, H.H.; WEBER, A. Mass spectral and GC data of drugs, poisons, pesticides, pollutants and their metabolites. VCH, 1992.