

# MÉTODO ESPECTROFOSFORIMÉTRICO PARA A DETERMINAÇÃO DE DOIS DERIVADOS DA BETA-CARBOLINA (HARMANE E HARMINE)

**Aluna: Flávia da Silva Figueiredo**  
**Orientador: Ricardo Queiroz Aucélio**

## Introdução

O harmane e o harmine pertencem à família das  $\beta$ -carbolinas e estão presentes em várias plantas medicinais, como a *Peganum harmala L.*. Suas sementes, em pequenas doses (25-50 mg), agem como estimulantes terapêuticos cerebrais brandos, algumas vezes provocando sono durante um período de 1-2 horas. Em doses maiores (acima de 750mg) os efeitos são alucinógenos, podendo até mesmo causar paralisia [1]. Devido à presença destes compostos em uma variedade de alimentos como o arroz, o milho, carnes e peixes fritos ou grelhados, em bebidas como o vinho, a cerveja e o uísque e em cigarros (tabaco) eles são considerados como contaminantes comuns da dieta diária das pessoas [2, 3]. Estudos visando aplicação terapêutica do harmane e do harmine no tratamento da AIDS também têm sido reportados [4].

Como nenhum método analítico baseado na fosforescência do harmane e do harmine, é descrito na literatura e o uso do efeito externo de íons de átomos pesados, para a amplificação de fosforescência de derivados da  $\beta$ -carbolina, também nunca foi reportado, foi desenvolvido, nesse projeto, um método fosforimétrico para determinação seletiva dessas duas substâncias visando obter um procedimento experimental que eliminasse a necessidade da separação prévia de componentes. Isso foi obtido com uma otimização das condições experimentais e instrumentais, tais como o efeito do pH, volume de tampão, concentração do íon de metal pesado e a concentração de surfactante depositada no substrato e tipo de varredura. Os métodos desenvolvidos foram testados em medicamento simulado de talidomida e em urina enriquecida.

## Objetivo

Otimizar as condições experimentais e instrumentais para a determinação espectrofosforimétrica sensível de dois derivados da  $\beta$ -carbolina (harmane e harmine) na temperatura ambiente e em substrato sólido, validando essas metodologias. Avaliar a possibilidade da determinação seletiva de harmane e harmine em amostras contendo os dois derivados da  $\beta$ -carbolina utilizando apenas um simples ajuste das condições experimentais e escolha correta do modo de varredura espectral.

## Metodologia

O método foi desenvolvido utilizando um espectrofluorímetro (LS 55 Perkin-Elmer) que tem como fonte de excitação uma lâmpada pulsada de xenônio e detector do tipo tubo fotomultiplicador. Para realizar as medições de fosforescência em substrato sólido, foi utilizado o aparato de medição em superfície sólida que é acoplado no compartimento de amostra do espectrômetro de luminescência. Para redução do sinal de fundo dos papéis utilizados como substrato sólido (papéis de filtro Whatman 42), foi necessário submetê-los a um processo de lavagem em extratores Soxhlet seguido de secagem sob luz infra-vermelha e irradiação por duas horas em um reator fotoquímico construído no próprio laboratório.

Após minucioso estudo das características fosforescentes dessas duas  $\beta$ -carbolinas em diferentes condições experimentais, foram selecionadas as situações potencialmente favoráveis. No caso da determinação seletiva do harmine, uma condição que mostrou um bom potencial foi com o uso de soluções preparadas em pH ácido (HCl 0,2 mol L<sup>-1</sup>) depositadas no substrato de celulose na ausência de íons de átomos pesados. Nesse caso, observou-se um sinal relativamente intenso para o harmine, enquanto que um sinal próximo ao do branco foi observado para uma quantidade equivalente de harmane, quando o comprimento de onda de excitação para o harmine é 336 nm. Testes de recuperação de harmine em amostras sintéticas contendo diferentes quantidades de harmane foram realizados e observou-se a ausência de interferências em soluções contendo quantidades de harmane até dez vezes maiores (em mol), sendo que a recuperação média de harmine, usando interpolação em curva analítica, foi de 105,8 + 16,2%. Esse resultado indicou que o método tem uma boa aplicabilidade em termos de seletividade. Limites de detecção e quantificação absolutos foram estimados em 0,75 ng e 2,5 ng, respectivamente.

No caso da determinação de harmane na presença de harmine, a simples seleção de condição experimental não foi suficiente para caracterizar uma situação favorável para a determinação seletiva. Nesse caso, o uso de varredura sincronizada, usada para minimizar a estrutura espectral do interferente (harmine), conjuntamente com o uso de derivação superior (segunda derivada), usada para aumentar a capacidade de discriminação entre espectros semelhantes, mostraram potencial para permitir tal determinação. Utilizando esses artifícios instrumentais, a determinação de harmane na presença de harmine pode potencialmente ser realizada em duas situações: (i) pH natural na presença de Ag<sup>+</sup> e em (ii) pH básico na presença de Tl<sup>+</sup> e de surfactante SDS.

Estudos envolvendo amostras de urina e de chás fortificados com essas duas  $\beta$ -carbolinas indicaram a boa potencialidade da técnica para a determinação seletiva, considerando as limitações impostas pela proporção das duas substâncias na amostra.

## Conclusões

A fosforimetria em temperatura ambiente e em substrato sólido (FTASS), utilizando a varredura espectral correta e as condições experimentais otimizadas, mostrou-se uma técnica bastante adequada para a determinação seletiva de harmane e harmine sem a separação prévia dos mesmos, obtendo percentuais de recuperação satisfatórios.

## Referências

- [1] KARTAL, M.; ALTUN, M. L. e KURUCU, S.. **HPLC method for the analysis of harmol, harmalol, harmine and harmaline in the seeds of Peganum harmala L.** J. of Pharmac. And Biomed. Analys., v. 31, p. 263, 2003.
- [2] WAKABAYASHI, K.; TOTSUKA, Y.; FUKUTOME, K.; OGURI, A.; USHIYAMA, H. e SUGIMURA, T.. **Human exposure to mutagenic / carcinogenic heterocyclic amines and comutagenic b-carbolines.** Mutation Research, v. 376, p. 253-259, 1997.
- [3] HERRAIZ, T. **Tetrahydro-beta-carboline-3-carboxylic acid compounds in fish and meat: possible precursors of co-mutagenic beta-carbolines norharman and harman in cooked foods.** Food Addit. Contamin., v. 178, p. 59-66, 2000.
- [4] CAO, R.; CHEN, Q.; HOU, X.; CHEN, H.; GUAN, H.; Ma, Y.; PENG, W. e XU, A.. **Synthesis, acute toxicities, and antitumor effects of novel 9-substituted b-carboline derivatives.** Bio. Med. Chem., v. 12, p. 4613-4623, 2004.