

DETERMINAÇÃO SELETIVA DE DERIVADOS DA β -CARBOLINA ATRAVÉS DA FOSFORIMETRIA NA TEMPERATURA AMBIENTE E SUBSTRATO SÓLIDO (FTASS) E ELETROCROMATOGRAFIA CAPILAR MICELAR (ECCM)

Alunos: Thiago Fernando Gonçalves Mota e Flávia S. Figueiredo
Orientador: Ricardo Aucélio

Introdução

Em países em desenvolvimento, uma boa parte da população ainda usa a medicina tradicional para satisfazer as suas necessidades de saúde, e as plantas medicinais ainda constituem um material básico para a pesquisa farmacológica e para o desenvolvimento de novas drogas. O harmame, harmine e harmol pertencem à família das beta-carbolinas e estão presentes em várias plantas medicinais, tais como a *Grewia bicolor*, a *Tribulus terrestris*, a *Passiflora incarnata* e principalmente a *Peganum harmala* L.[1,2]

Devido à presença destes compostos em uma variedade de alimentos como o arroz, o milho e carnes e peixes fritos ou grelhados (mais de 184 ng g^{-1}), em bebidas como o vinho, a cerveja e o uísque (acima de $42 \text{ } \mu\text{g.mL}^{-1}$) e em cigarros (mais de $14,1 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$ de tabaco), eles são agora considerados como contaminantes comuns da dieta diária das pessoas [3,4]. Após exposição aos mesmos, eles podem ser encontrados e quantificados em urina e em sangue humanos.

O harmine constitui um dos principais metabólitos do harmame. Cerca de 13% do harmame administrado oralmente é transformado em harmine. O harmame, uma vez absorvido pelo corpo, sofre um primeiro passo do metabolismo pelo citocromo P-450 no fígado, produzindo o metabólito 7-hidroxil (harmol), o qual é metilado para gerar o harmine. Uma porção deste harmine entra na circulação sanguínea, enquanto que uma outra porção é catalisada pela enzima P-450 para hidroxilação ou eliminação na bÍlis. Uma vez que a metilação do 7-hidróxi-harmame (harmol) aumenta a lipofilicidade, o harmine pode ser mais favoravelmente distribuído pelos tecidos do corpo.[5]

Objetivos

O objetivo desse trabalho é o de avaliar a Fosforimetria em Temperatura Ambiente em Substrato Sólido (FTASS) como técnica analítica para a determinação seletiva de harmame, harmine e harmol, sem a necessidade do uso da separação prévia destes componentes, e validar o método utilizando Eletrocromatografia Capilar Micelar (ECCM). O método foi desenvolvido em um espectrofluorímetro Perkin-Elmer LS-55 com fonte pulsada de xenônio e detector do tipo tubo fotomultiplicador. Os parâmetros instrumentais selecionados foram: banda espectral de passagem (10 nm); tempo de retardo (3ms); tempo de abertura do detector (3 ms). Papel filtro previamente tratado para redução de sinal de fundo foi usado como substrato para imobilização do analito. Para comparação e validação, também foi utilizado um sistema de eletroforese capilar da Agilent.

Metodologia

Após minucioso estudo das características fosforescentes dessas três beta-carbolinas em diferentes condições experimentais, foram selecionadas algumas situações potencialmente favoráveis para se alcançar o objetivo do trabalho. Foi escolhida a condição de pH natural, na

presença de 0,60 mg de Hg_2^{2+} como íon de átomo pesado depositado no papel, por ser esta a melhor condição em que o harmol apresenta o maior sinal, quando comparado com o harmane e o harmine. Os comprimentos de onda de excitação e emissão utilizados para obtenção dos espectros foram 334 nm e 486 nm, respectivamente. A fim de minimizar ainda mais o efeito dos sinais de harmane e do harmine no sinal do harmol, foi necessário fazer os espectros da 2ª derivada das varreduras dos sinais fosforescentes do harmol, harmane e harmine, considerando para leitura o comprimento de onda de 564 nm. Nesta condição a razão entre a intensidade da mistura (harmol:harmine:harmane 1:10:10 v/v/v) e a intensidade do harmol foi em torno de 1, concluindo-se que pode ser possível, utilizando o artifício da 2ª derivada para aumento da seletividade, a determinação destes derivados da β -carbolina em amostras de fluido biológico, por exemplo

Conclusões

Testes de recuperação em amostras de urina contendo diferentes quantidades de harmane, harmine e harmol foram realizados. A recuperação média de harmol, usando interpolação em curva analítica, foi de próximo de 100%. Esse resultado indicou que o método tem uma boa aplicabilidade em termos de seletividade. Limite de detecção absoluto foi estimado na ordem de ng. Para fins de comparação e validação. As mesmas amostras foram analisadas por ECCM, obtendo-se recuperação equivalente ao observado com FTASS. Um teste estatístico mostrou que não há diferença entre os resultados encontrados pelos dois métodos ($p=0.05$; $n_{\text{FTASS}}=6$; $n_{\text{ECCM}}=5$).

Referências

- 1 SOBHANI, A. M.; EBRAHIMI, S. e MAHMOUDIAN, M.. **An in vitro evaluation of human DNA Topoisomerase I Inhibition by Peganum harmala L. Seeds extract and its b-carboline alkaloids.** J. Pharm. Sci., v. 5(1), p. 18, **2002**.
- 2 GIORGIO, C., DELMAS, F., OLLIVIER, E., ELIAS, R., BALANSARD, G. e DAVID, P.. **In vitro activity of the b-carboline alkaloids harmane, harmine and harmaline toward parasites of the species Leishmania infantum.** Exp. Parasit., v. 106, p. 67-74, **2004**.
- 3 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**.
- 4 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**.
- 5 GYAN, Y., LOUIS, E. D. e ZHENG, W.. **Toxicokinetics of tremorogenic natural products, harmane and harmine in male Sprague-Dawley rats.** J. Toxicol. Environ. Health, v. 64, p. 645-660, **2001**