

DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE LAPACHOL NA PRESENÇA DE LAPACHONAS EM EXTRATO ETANÓLICO DE *Tabebuia impetiginosa* UTILIZANDO ELETRODO DE EPÓXI-GRAFITE

Aluno: Ana Beatriz de Oliveira Azevedo

Orientador: Ricardo Queiroz Aucélio

Introdução

O lapachol é uma para-naftoquinona encontrada na família de plantas *Bignoniaceae*. Essa substância tem sido estudada para o tratamento de neoplasias e doença de Chagas [1]. A principal abordagem empregada na determinação do lapachol é baseada na cromatografia líquida (HPLC) com detecção por fotometria de absorção [2]. Lima *et al.*, realizaram a determinação indireta baseada na fotoluminescência de supressão de pontos quânticos (QDs) na presença de lapachol, com limite de detecção de $0,04 \text{ mg L}^{-1}$ para o lapachol, sendo este determinado com sucesso em um extrato etanólico do cerne de *T. impetiginosa* [3]. Estudos utilizando a VC (voltametria cíclica) feitos por Goulart *et al.*, usando um eletrodo de carbono vítreo, mostraram que o radical aniônico do lapachol interage com o oxigênio e provoca a desprotonação do lapachol [4]. A voltametria de onda quadrada é uma técnica muito sensível e que se baseia na exploração das propriedades redox das substâncias. O eletrodo compósito de epóxi-grafite tem demonstrado muita versatilidade como sensor eletroquímico por conta da sua característica de arranjo de microeletrodos de grafite. A presença do surfactante catiônico CTAB ajuda na compatibilização da naftoquinona (caráter mais hidrofóbico) no meio aquoso onde a análise é feita e melhora o transporte do analito para a interface do eletrodo, onde a reação ocorre. A cromatografia de camada fina (CCF) permite a separação de componentes da amostra do restante da matriz, melhorando a obtenção de seletividade nas análises [5].

Objetivos

Desenvolver um método eletroanalítico, usando voltametria de onda quadrada (SWV) e eletrodo compósito de epóxi-grafite (EGE), para determinar o lapachol em amostras complexa de extrato etanólico de *T. impetiginosa*. As condições experimentais foram ajustadas de tal forma a se ter sinal voltamétrico intenso e seletividade na resposta eletroquímica e na separação prévia do lapachol por CCF. Ademais um estudo eletroquímico foi realizado para compreender o mecanismo redox do lapachol.

Metodologia

O analisador voltamétrico μ -Autolab (Metrohm, Suíça) foi usado acoplado a um eletrodo de epóxi-grafite (EGE) [6]. Utilizou-se o eletrodo de referência de $\text{Ag}/\text{AgCl}(\text{KCl}_{\text{sat}})$ e um fio de platina como eletrodo auxiliar. O tradicional eletrodo de carbono vítreo (ECV) também foi usado para comparação. Lapachol da amostra comercial de Pau d'arco (250 mg de casca em pó, por cápsula) foi extraído utilizando etanol, em um banho de ultrassom (5 min). O cerne de *T. impetiginosa* (Ipê Rosa) foi triturado (aproximadamente 1 g) de onde foram obtidas porções de 125 mg do pó resultante para extração com etanol. Os extratos foram filtrados, avolumados e guardado no escuro e sob refrigeração. Todos os extratos da amostra foram preparados em triplicata. Para caracterizar a área eletroativa do EGE, experimentos foram realizados, de onde foi possível estimar a área eletroativa como $0,0078 \text{ cm}^2$, usando a simplificação da equação de Randles-Sevcik. A CCF foi realizada em placa e sílica com fase móvel de clorofórmio/hexano, permitindo a coleta da zona do lapachol em $\text{RF} = 0,78$.

Resultados e discussão

O estudo qualitativo do processo eletroquímico do lapachol (24 mg L^{-1}), na presença de CTAB, por VC produziu um único pico de redução (máximo em -450 mV) na direção catódica e também um único pico de oxidação (máximo em -154 mV) na direção anódica.

Através de experimentos empregando VC e SWV constatou-se também que o processo redox é reversível, controlado pela difusão dos reagentes e influenciado pela concentração hidrogeniônica do meio. O sinal analítico (corrente de pico) foi diretamente e linearmente proporcional à concentração de lapachol na célula eletroquímica ($R^2 = 0,996$). A equação da curva de adição padrão foi $I_p (\mu A) = (2,5 \times 10^{-7} \pm 7,0 \times 10^{-9}) C_{\text{lapachol}} (\text{mg L}^{-1}) + (3,8 \times 10^{-6} \pm 3,4 \times 10^{-8})$ ($R^2 = 0,999$), cobrindo o intervalo até $0,49 \text{ mg L}^{-1}$ de analito. O limite de detecção instrumental foi de $0,029 \text{ mg L}^{-1}$, o limite de quantificação foi de $0,097 \text{ mg L}^{-1}$. A precisão instrumental de 2% foi obtida a partir de dez medições consecutivas de sinal (medidas após a pré-concentração) produzido pelos padrões analíticos em dois níveis diferentes de concentrações ($0,097 \text{ mg L}^{-1}$ e $0,580 \text{ mg L}^{-1}$). Uma comparação empregando o ECV com o EGE mostrou que a sensibilidade e desempenho analítico foram melhor utilizando o EGE. A adição de uma alíquota do extrato etanólico do cerne da *T. impetiginosa* foi feita diretamente na célula eletroquímica e produziu um sinal que indicou que componentes da matriz interferiram na análise. Para separar o lapachol dos componentes da amostra, o procedimento de CCF foi realizado, o que permitiu recuperação do lapachol de 95%. A perda média de analito durante o processo de separação por CCF foi estimado em $3,4 \pm 0,4\%$. Os resultados para precisão intermediária, considerando o desvio-padrão combinado de dois analistas, foi de $0,06 \mu\text{g}$ ou 2%. A concentração média do lapachol (com limite de confiança de 95% e $n=9$) no extrato do cerne de *T. impetiginosa* foi de $340 \pm 10 \text{ mg L}^{-1}$. As mesmas amostras do extrato também foram analisadas por HPLC e os resultados foram estatisticamente concordantes.

Conclusões

Um método voltamétrico foi desenvolvido para quantificar o lapachol e foi aplicado em análises de extratos do cerne da *T. impetiginosa*. Um eletrodo de epóxi-grafite possibilitou resposta linear e sensível além de baixo ruído quando comparado com o eletrodo de carbono vítreo. A utilização de CTAB no eletrólito suporte (pH 6) possibilitou picos redox intensos e reversíveis para o lapachol, o qual produziu um intenso sinal em SWV. A determinação do lapachol utilizando o procedimento da CCF possibilitou a separação do lapachol de componentes presentes em extratos de plantas, permitindo assim determinação seletiva.

Referências

- 1- C.O. Salas, *et al.*, Natural and synthetic naphthoquinones active against *Trypanosoma cruzi*: an initial step towards new drugs for Chagas disease, **Curr. Med. Chem.** v. 18 p 144–161, 2011.
- 2 - J. Steinert, *et al.*, HPLC separation and determination of naphtho[2,3 b]furan-4,9-diones and related compounds in extracts of *Tabebuia avellanedae* (Bignoniaceae), **J. Chromatogr. A** v. 693 p 281–287, 1995.
- 3 - J. L. X. Lima, *et al.*, Improved quantum dots fluorescence quenching using organized medium: A study of the effect of naphthoquinones aiming the analysis of plant extracts, **Microchem. J.** v. 110 p 775–782, 2013.
- 4 - M. O. F. Goulart, *et al.*, Electrochemical study of oxygen interaction with lapachol and its radical anions, **Bioelectrochem.** v. 59 p 85–87, 2013.
- 5 - J. M. Carvalho, *et al.*, Selective determination of rutin by fluorescence attenuation of the cds-2-mercaptopropionic acid nanocrystal probe, **Anal. Let.** v. 46 p 207–224, 2013.
- 6 - A. I. Balbín-Tamayo, *et al.*, Electrochemical Characterization a New Epoxy Graphite Composite Electrode as Transducer for Biosensor, **Sens. Transd.** v. 202 p 59-65, 2016.