

# Espectroscopia de Fluorescência Aplicada à Determinação de Cumarina e 7-Hidroxycumarina em Drágeas e Soro Humano Sintético

Mirian Marcolan (PG)<sup>1</sup>, Priscila A. Martins (IC)<sup>1</sup>, Valber A. Pedrosa (PQ)<sup>2</sup>, Hueder P. M. de Oliveira (PQ)<sup>1</sup>, Maira R. Rodrigues (PQ)<sup>1</sup>, Lucia Codognoto (PQ)<sup>1\*</sup>.

<sup>1</sup> Universidade Camilo Castelo Branco, Núcleo do Parque Tecnológico de São José dos Campos, Rod. Presidente Dutra Km 138, CEP 12247-004, São José dos Campos- SP, Brasil, \*luciacodognoto@hotmail.com. <sup>2</sup> Department of Materials Engineering, Auburn University, Auburn, AL 36849

Palavras Chave: cumarinas, fluorescência, fármacos, espectroscopia.

## Introdução

A cumarina simples apresenta propriedades terapêuticas como, anticoagulante, ação bronco-dilatadora e antiinflamatória. O seu principal metabólito plasmático ativo é a 7-hidroxycumarina. O intenso uso de cumarina nos últimos anos tem requerido o desenvolvimento de métodos de análise, não somente destinados para o controle de qualidade nas preparações farmacêuticas, mas também para fluidos biológicos e em cosméticos.

As características da espectroscopia de fluorescência aliadas ao fato dos compostos cumarínicos serem naturalmente fluorescentes, pode ser uma alternativa viável para o desenvolvimento de uma metodologia simples e de baixo custo para a quantificação destes compostos em diferentes matrizes. Assim, o objetivo geral deste trabalho foi a quantificação de cumarina em drágeas utilizando a espectroscopia de fluorescência e avaliação da potencialidade do método para a quantificação de 7-hidroxycumarina (7-HC) em soro humano sintético.

## Resultados e Discussão

As medidas foram realizadas utilizando o espectrofluorímetro Jobin-Yvon Spex fluoromax-2 com varredura de 200 a 800 nm, usando cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico. As soluções das cumarinas foram obtidas a partir de uma solução estoque  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em acetonitrila.

A cumarina apresentou máximos de excitação e emissão em 310 nm e 390 nm, respectivamente em meio aquoso (água Milli-Q). Foi observado um comportamento linear para o sinal da cumarina no intervalo de concentração de  $2,5 \times 10^{-6}$  a  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  com linearidade de 0,998 e sensibilidade de  $2,9 \times 10^{10} \text{ u.a./mol L}^{-1}$ . O método foi utilizado para a determinação de cumarina em drágeas e os resultados encontram-se na Tabela 1. O teste de exatidão foi realizado por meio da análise de seis amostras de medicamento e os resultados corroboraram com os de HPLC (Tabela 1), não foi observada diferença significativa entre as amostras analisadas ( $P < 0,05$ ).

A 7-HC apresentou máximo de excitação em 335 nm e emissão 450 nm. A curva analítica para a 7-HC foi obtida, em tampão fosfato pH 7,0, no intervalo de concentração  $1,0 \times 10^{-8}$  a  $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ , com linearidade de 0,999 e sensibilidade de  $5,5 \times 10^{10} \text{ u.a./mol L}^{-1}$ . O limite de detecção foi de

$1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  ou  $1,6 \mu\text{g L}^{-1}$  (concentração máxima de 7-HC no organismo após alguns minutos é de  $6,8 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Após a obtenção dos parâmetros analíticos, a potencialidade do método proposto foi testada para a quantificação da 7-HC em soro humano sintético<sup>1</sup>. Na composição do soro sintético somente os aminoácidos triptofano, fenilalanina e tirosina apresentam fluorescência. Os resultados obtidos em termos de intensidade de emissão para a 7-HC, utilizando-se o soro sintético como solvente, indicaram que os componentes do soro sintético não influenciaram significativamente na quantificação da 7-HC (Figura 1).

**Tabela 1.** Resultados obtidos para a determinação de cumarina em drágeas. (cumarina 15 mg/drágea).

|   | Método Fluorimétrico  |                       | Método cromatográfico |
|---|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
|   | Adição de padrão      | Calibração Externa    | Calibração Externa    |
|   | cumarina $\pm s$ (mg) | cumarina $\pm s$ (mg) | cumarina $\pm s$ (mg) |
| 1 | $14,2 \pm 1,1$        | $14,1 \pm 1,0$        | $13,8 \pm 2,5$        |
| 2 | $13,7 \pm 0,6$        | $13,9 \pm 0,5$        | $13,4 \pm 4,2$        |
| 3 | $15,3 \pm 1,0$        | $14,8 \pm 0,9$        | $14,5 \pm 3,2$        |
| 4 | $15,1 \pm 0,9$        | $15,2 \pm 1,0$        | $14,7 \pm 3,7$        |
| 5 | $15,7 \pm 1,0$        | $15,2 \pm 1,2$        | $14,8 \pm 3,0$        |
| 6 | $13,5 \pm 1,0$        | $13,7 \pm 1,2$        | $14,1 \pm 3,5$        |

s\* = estimativa de desvio padrão.

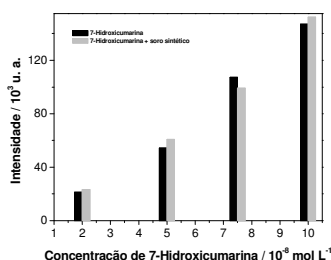


Figura 1 Intensidade de emissão em função da concentração de 7-hidroxycumarina em soro sintético (■ 7-HC + tampão fosfato e □ 7-HC + soro humano sintético).

## Conclusões

Os resultados obtidos indicam que a espectroscopia de fluorescência pode ser uma alternativa viável, para a quantificação de cumarina e 7-HC em medicamentos e soro sintético, com as vantagens de não necessitar de um trabalho laborioso de preparo de amostras, de ser rápido e de fácil manipulação.

## Agradecimentos

À Fapesp e ao CNPq. À L'Oréal/ABC/Unesco pelo Auxílio Grant Para Mulheres na Ciência 2007.

<sup>1</sup> Parham, H.; Zagar, B. *Talanta*, **2001**, 55, 255.