

## RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 28/05/2040.



**Universidade Estadual Paulista  
Instituto de Química**

***PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA***

**Avaliação da interação entre a curcumina e o ácido  
ascórbico em ensaios de atividade antioxidante e  
antimicrobiana**

**OMAR ARAFAT KDUDSI KHALIL**

**Araraquara  
2011**

**OMAR ARAFAT KDUDSI KHALIL**

**Avaliação da interação entre a curcumina e o ácido ascórbico em  
ensaios de atividade antioxidante e antimicrobiana**

Tese de Doutorado apresentada ao Instituto de  
Química de Araraquara, para a obtenção do  
título de Doutor em Biotecnologia.

**Orientadora: Prof. Adj. OLGA  
MARIA MASCARENHAS FARIA DE  
OLIVEIRA**

**Co-Orientador: Prof. Dr. JOSÉ  
CARLOS REBUGLIO VELLOSA**

**Araraquara  
2011**

## DADOS CURRICULARES DO ALUNO DURANTE O DOUTORADO

### OMAR ARAFAT KDUISI KHALIL

#### 1.DADOS PESSOAIS

1.1- Nascimento:	28/05/1976
1.2- Nacionalidade:	Brasileira
1.3- Naturalidade:	São Gabriel
1.4- Estado Civil:	Solteiro
1.5- Filiação:	Nawal Kdudsi Khalil Mahmud Suleimam El Abd Khalil
1.6- Profissão:	Professor

#### 2.FORMAÇÃO ACADÊMICA

##### 2.1- Graduação em Farmácia Industrial

Curso concluído em 23/08/1998 na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria-RS, Brasil.

##### 2.2- Mestrado em Ciências Farmacêuticas

Título da Dissertação: “Rastreamento de Metabólitos Antimicrobianos da Microbiota do Solo do Estado de São Paulo”, realizada no Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UNESP. Data da defesa: 22 de fevereiro de 2002.

##### 2.3- Doutorado em Biotecnologia

Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia, Instituto de Química de Araraquara, UNESP. Defesa prevista para 11 de julho de 2011.

#### 3. PUBLICAÇÕES NO PERÍODO (APROVADAS OU SUBMETIDAS)

##### 3.1. Trabalhos publicados em periódicos indexados no período:

• VELLOSA, J. C. R.; **KHALIL, O. A. K.**; KHALIL, N. M.; SANTOS, V. A. F. F. M.; HAKIME-SILVA, R. A.; FURLAN, M.; BRUNETTI, I. L.; OLIVEIRA, O. M. M. F. *Maytenus ilicifolia* as source of antioxidants and anti-radicals agents and its action on neutrophils peroxidase (myeloperoxidase). **African Journal of Biochemistry Research**, v. 2, n. 12, p. 232-239, 2008.

##### 3.2. Artigos submetidos a periódicos indexados no período:

• 2010: **KHALIL, O. A. K.**; OLIVEIRA, O. M. M. F.; VELLOSA, J. C. R.; QUADROS, A. U.; DALPOSSO, L. M.; KARAM, T. K.; MAINARDES, R. M.; KHALIL, N. M. “Curcumin antifungal and antioxidant activities are increased in the presence of ascorbic acid”. **Food Chemistry**.

• 2010: MANENTE, F. A.; MELLO, L. R. A.; **KHALIL, O. A. K.**; CARVALHO, C. T.; BANNACH, G.; VELLOSA, J. C. R. “Efeito da complexação de metais aos antiinflamatórios na ação contra agentes oxidativos e radicais livres: ação do cetoprofeno”. **Eclética Química**.

• 2010: NEGRI, K. M. S.; **KHALIL, O. A. K.**; DIGNANI, D. F.; BAUAB, T. M.; VELLOSA, J. C. R.; OLIVEIRA, O. M. M. F. “Influência do método de extração nas atividades antioxidante e antibacteriana de quatro cogumelos consumidos no Brasil”. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**.

- 2010: VELLOSA, J. C. R.; REGASINI, L. O.; KHALIL, N. M.; BOLZANI, V. S.; **KHALIL, O. A. K.**; MANENTE, F. A.; NETTO, H. P.; OLIVEIRA, O. M. M. F. "Biochemical and cytotoxic study for kaempferol, quercetin and isoquercitrin antioxidant activities". *Eclética Química*.

### 3.3 Resumos em eventos científicos:

- MANENTE, F. A.; **KHALIL, O. A. K.**; PARABOCZ, G.; VELLOSA, J. C. R. Cellular toxicity of curcumin is altered by ascorbic acid: free radical induced haemolysis. **5th International Congress on Stress Responses in Biology and Medicine**. Quebec, Canadá, (submetido), 2011;
- MANENTE, F. A.; **KHALIL, O. A. K.**; VELLOSA, J. C. R. Perfil bioquímico antioxidante como mecanismo anti-inflamatório: comparação do extrato bruto etanólico das folhas de *P. nitens* com o cetoprofeno. In: **XIX Encontro anual de Iniciação Científica do Paraná**, 2010, Guarapuava-PR;
- MELLO, L. R. A.; **KHALIL, O. A. K.**; CARVALHO, C. T. ; VELLOSA, J. C. R. Estudo da ação do cetoprofeno e derivados complexados a metais sobre espécies reativas do oxigênio e outros radicais livres. In: **XIX Encontro anual de Iniciação Científica do Paraná**, 2010, Guarapuava-PR;
- **KHALIL, O. A. K.**; NEGRI, K. S.; VELLOSA, J. C. R.; BAUAB, T. M.; DIGNANI, D. F.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Brazilian Shiitake as a good source of antimicrobial agents. **VIII Brazilian Meeting on Chemistry of Food and Beverages (BMCFB)**, 2010, São Carlos-SP;
- MELLO, L. R. A.; MOREIRA NETO, R.; MANENTE, F.A.; PASQUINI NETTO, H.; CARVALHO, C. T.; IONASHIRO, M.; **KHALIL, O. A. K.**; VELLOSA, J. C. R. Ketoprofen and erythrocytes free radical damage. In: **39ª Reunião Anual da SBBq**, 2010, Foz do Iguaçu-PR;
- **KHALIL, O. A. K.**; MANENTE, F. A.; KHALIL, N. M.; OLIVEIRA, O. M. M. F.; VELLOSA, J. C. R. Anti- and hemolytic actions of natural antioxidants: curcumin and ascorbate association. In: **39ª Reunião Anual da SBBq**, 2010, Foz do Iguaçu-PR;
- **KHALIL, O. A. K.**; VELLOSA, J. C. R.; NEGRI, K. M. S.; VULCANO, C. M. Atividade antimicrobiana de extratos de *Casearia sylvestris* SW, 2009. In: **VI Congresso Científico da UNIRP**, 2009 São José do Rio Preto-SP;
- NEGRI, K. M. S.; **KHALIL, O.A.K.**; VELLOSA, J. C. R.; JARDIM, E. G. J.; LANDUCCI, L. F.; OLIVEIRA, O. M. M. F. *Psidium cattleianum* as a good source of antioxidant agents. In: **56ª Jornada Farmacêutica da UNESP**, 2009, Araraquara-SP;
- NEGRI, K. M. S.; **KHALIL, O. A. K.**; KHALIL, A.; JARDIM, E. G. J.; LANDUCCI, L. F.; GAETTI-JARDIM, E. C.; CAMPOS, M. J. A. In vitro inhibition of gram negative bacteria biofilm formation by polar extracts of brazilian savanna plants. In: **II Simpósio de Microbiologia e Imunologia**, 2009, Bauru-SP;
- NEGRI, K. M. S.; **KHALIL, O. A. K.**; VELLOSA, J. C. R.; LORENZON, C. M. V. Atividade antimicrobiana de extratos de *Casearia sylvestris* SW. In: **VI Congresso Científico da UNIRP**. 2009, São José do Rio Preto-SP;
- SANTOS, N. A.; **KHALIL, O. A. K.**; VELLOSA, J. C. R.; KHALIL, N. M.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Atividade antioxidante do pteroginosídeo, um flavonóide isolado de *Pterogyne nitens*. In: **III Simpósio Iberoamericano de Planta Medicinal**. 2008, Ponta Grossa-PR;
- **KHALIL, O. A. K.**; PEREIRA-NETO, L. M, GAETTI-JARDIM J.; GAETTI-JARDIM, E. C.; LANDUCCI, L. F. Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas do cerrado brasileiro sobre bactérias gram-negativas bucais, 2007. In: **VIII Jornada Odontológica, VII Jornada Acadêmica e V Jornada de Pós-Graduação da FUNEC**. 2007, Santa Fé do Sul-SP.

#### **4. Orientação de monografia em cursos de graduação:**

- Cybele Mara Vulcano Lorenzon. Principais fitoterápicos disponíveis no Brasil para o tratamento de infecções. 2009. Curso (Farmácia-Bioquímica) - Centro Universitário de Rio Preto;
- Guilherme Barbosa Ribeiro. Principais fitoterápicos disponíveis no Brasil para o tratamento de hepatopatias. 2009. Curso (Farmácia-Bioquímica) - Centro Universitário de Rio Preto;
- Letícia Locatti Oporini. Farmacoterapêutica em Diabetes. 2009. Curso (Farmácia-Bioquímica) - Centro Universitário de Rio Preto;
- Mirela Assoni Nakamuta. *Boswellia serrata* no tratamento de doenças inflamatórias intestinais: Crohn e Retocolite. 2009. Curso (Farmácia-Bioquímica) - Centro Universitário de Rio Preto;
- Camila Campelo. Principais fitoterápicos disponíveis no Brasil para o tratamento de gastrites e úlceras estomacais. 2009. Curso (Farmácia-Bioquímica) - Centro Universitário de Rio Preto.
- “Avaliação da prescrição de medicamentos para infecção do trato urinário em drogarias e farmácias da região central de São José do Rio Preto-SP”. Curso de Farmácia (UNIRP), São José do Rio Preto-SP;
- “Avaliação de interações medicamentosas em receitas prescritas a um grupo de idosos da cidade de Monte Aprazível-SP”. Curso de Farmácia (UNIRP), São José do Rio Preto-SP;

#### **5. Orientação de monografia em cursos de pós-graduação (Lato Sensu):**

- Edmar Capuz. Efeitos da cianocobalimina no sistema neuromuscular. Curso de Farmácia Clínica (UNIRP), São José do Rio Preto-SP;
- Pamela Mascarenhas. Pacientes com angina pectoris com o uso de nitratato de isossorbida. Curso de Farmácia Clínica (UNIRP), São José do Rio Preto-SP;
- Stela Morisugi. Análise comparativa de bulas de medicamentos fitoterápicos contendo *Aesculus hippocastanum* L. Curso de Farmácia Clínica (UNIRP), São José do Rio Preto-SP;
- Natalia Ovídio. Atenção farmacêutica em pacientes hipertensos. Curso de Farmácia Clínica (UNIRP), São José do Rio Preto-SP;
- Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* e *Allium sativum*. Curso de Fitoterapia (Intecq), São José do Rio Preto-SP;
- Atividade antitumoral da própolis. Curso de Fitoterapia (Intecq), São José do Rio Preto-SP;
- Plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. Curso de Fitoterapia (Intecq), São José do Rio Preto-SP;
- Desenvolvimento tecnológico de fitoterápicos. Curso de Fitoterapia (Intecq), São José do Rio Preto-SP;
- Botânica, química e aspectos farmacológicos de Passiflora. Curso de Fitoterapia (Intecq), São José do Rio Preto-SP;
- A erva-baleeira (*Cordia verbenacea* DC.) na fitoterapia brasileira. Curso de Farmácia Clínica (UNIRP), São José do Rio Preto-SP;
- Obesidade. Curso de Farmácia Clínica (UNIRP), São José do Rio Preto-SP;

#### **6. Banca de monografia em cursos de graduação:**

- Perfil de usuários de medicamentos antiobesidade no município de Mirassol-SP” . Curso de Farmácia (UNIRP), São José do Rio Preto-SP;
- Análise e uma amostra de fórmulas magistrais de emagrecimento. Curso de Farmácia (UNIRP), São José do Rio Preto-SP;

- Efeito do *Tamarindus indica* na diabetes induzida por aloxana em ratos. Curso de Farmácia (UNIRP), São José do Rio Preto-SP;
- Levantamento de plantas tóxicas em bairros da cidade de São José do Rio Preto-SP. Curso de Farmácia (UNIRP), São José do Rio Preto-SP;
- SINGOLANI, A. L. F. (et al.), KHALIL, O. A. K. Efeito do extrato aquoso da *Casearia sylvestris* Swartz na pleurisia induzida pela BthTX-II em ratos, 2008. (Farmácia-Bioquímica) Centro Universitário de Rio Preto;
- PASTRÊS, D. A. (et al.); KHALIL, O. A. K. Levantamento de dados sobre o conhecimento acerca de medicamentos genéricos pela população de Guaraci-SP, 2008. (Farmácia-Bioquímica) Centro Universitário de Rio Preto;
- GORGATTO, A.C. (et al.); KHALIL, O. A. K. Perfil de usuários de medicamentos antiobesidade no município de Mirassol, 2008. (Farmácia-Bioquímica) Centro Universitário de Rio Preto;
- NASCIMENTO, A. A. (et al.); KHALIL, O. A. K. Análise de uma amostra de fórmulas magistrais de emagrecimento, 2007. (Farmácia-Bioquímica) Centro Universitário de Rio Preto;
- POZZA, A. M. (et al.); KHALIL, O. A. K. Efeito do *Tamarindus indica* na diabetes induzida por aloxana em ratos, 2007. (Farmácia-Bioquímica) Centro Universitário de Rio Preto;
- PEREIRA, A. R. (et al.); KHALIL, O. A. K. Levantamento de plantas tóxicas em bairros da cidade de São José do Rio Preto, 2007. (Farmácia-Bioquímica) Centro Universitário de Rio Preto.

## 7. Iniciação científica

- Cybele Mara Vulcano Lorenzon. Atividade antimicrobiana de extratos aquosos e hidroalcoólicos de *Casearia sylvestris* S.W. sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. 2009. Iniciação científica (Farmácia-Bioquímica). Centro Universitário de Rio Preto. Período: 03/11/2008 a 30/07/2009.

## 8. Co-orientação em projetos

- Co-orientação de Iniciação Científica da aluna do Curso de Química (Licenciatura) Nathalia Abe Santos, bolsista FAPESP/IC, graduanda do Curso de Licenciatura em Química, Instituto de Química (IQ), UNESP, Campus de Araraquara-SP, sobre “Peroxidase e extratos de metabólitos secundários do cogumelo *Agaricus blazei* Murril: isolamento, caracterização e capacidade antioxidante”, desenvolvido no Laboratório de Enzimologia, Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química, UNESP - IQ, período de 10/2007 a 09/2008 (10 horas/semana).
- Co-orientação de iniciação científica de Kamila Maria Silveira Negri, aluna de Iniciação Científica no projeto “*Psidium cattleianum* as a source of antioxidant agents”, desenvolvido no Laboratório de Enzimologia, Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química, UNESP - IQ, período de 03/2009 a 07/2009 (10 horas/semana).

### 9. Disciplinas cursadas no período:

Disciplina	Ano	Período Letivo	Créditos	Carga Horária	Freq	Conceito
Bioética e os Avanços Científicos e Tecnológicos	2007	2º Semestre	6	90	93,33	A
Metabolismo Microbiano	2007	2º Semestre	12	180	100	A
Tecnologias da Informação & Pesquisa Bibliográfica	2007	2º Semestre	3	45	86,67	B

### 10. Aprovação e Convocação em Concurso Público:

- Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás. Concurso Público de Provas e Títulos para o provimento de cargos de professor. Edital nº 10/2008. Área: bioquímica: Classificação: 1º lugar.

### 11. Aulas ministradas em cursos de graduação:

**2007, 2º semestre: Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP), São José do Rio Preto-SP:**

- Disciplina: *Farmacognosia*, Curso de **Farmácia** (60 hrs);
- Disciplina: *Fitoterápicos*, **Farmácia** (60 hrs);
- Disciplina: *Bromatologia e Alimentos Funcionais*, **Farmácia** (80 hrs);

**2008, 1º semestre: Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP), São José do Rio Preto-SP:**

- Disciplina: *Farmacologia*, **Enfermagem** (80 hrs);
- Disciplina: *Farmacologia Aplicada à Nutrição*, **Nutrição** (40 hrs);
- Disciplina: *Farmacologia Geral*, **Fisioterapia** (20 hrs);
- Disciplina: *Fitoterápicos*, **Farmácia** (40 hrs);
- Disciplina: *Controle de Qualidade de Medicamentos e Matérias-Primas Farmacêuticas*, **Farmácia** (40 hrs);

**2008, 2º semestre: Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP), São José do Rio Preto-SP:**

- Disciplina: *Farmacognosia*, Curso de **Farmácia** (60 hrs);
- Disciplina: *Fitoterápicos*, **Farmácia** (60 hrs);
- Disciplina: *Bromatologia e Alimentos Funcionais*, **Farmácia** (80 hrs);
- Disciplina: *Farmacologia*, **Enfermagem** (80 hrs);
- Disciplina: *Farmacologia Aplicada à Nutrição*, **Nutrição** (60 hrs);

**2009, 1º semestre: Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP), São José do Rio Preto-SP:**

- Disciplina: *Farmacologia*, **Enfermagem** (80 hrs);
- Disciplina: *Farmacologia Aplicada à Nutrição*, **Nutrição** (60 hrs);
- Disciplina: *Fitoterápicos*, **Farmácia** (60 hrs);

**2009, 2º semestre: Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP), São José do Rio Preto-SP:**

- Disciplina: *Farmacognosia*, Curso de **Farmácia** (60 hrs);
- Disciplina: *Fitoterápicos*, **Farmácia** (60 hrs);
- Disciplina: *Bromatologia e Alimentos Funcionais*, **Farmácia** (80 hrs).



**2010, 2º semestre: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás (IFG-GO), Formosa-GO:**

- Disciplina: *Química Geral*, Curso de **Licenciatura em Biologia**;
- Disciplina: *Bioquímica e Técnicas Laboratoriais*, Curso de **Licenciatura em Biologia**;

**2011, 1º semestre: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás (IFG-GO), Formosa-GO:**

- Disciplina: *Química Geral*, Curso de **Licenciatura em Biologia**;
- Disciplina: *Bioquímica e Técnicas Laboratoriais*, Curso de **Licenciatura em Biologia**;

## **12. Aulas ministradas em cursos de pós-graduação (Lato Sensu):**

**2007, 2º semestre:**

- Disciplina: *Farmacologia e Atenção Farmacêutica em Situações Especiais*. Curso de **Farmácia Clínica e Atenção Farmacêutica (UNIRP)**. São José do Rio Preto-SP (9 hrs);

**2008, 1º semestre:**

- Disciplina: *Manipulação de Fitoterápicos*. Curso de **Farmácia Magistral (Associação Brasileira de Farmacêuticos - ABF)**. Rio de Janeiro-RJ (8hrs);
- Disciplina: *Farmácia Clínica e Atenção Farmacêutica em Distúrbios Menores*. Curso de **Farmácia Clínica e Atenção Farmacêutica (UNIRP)**. São José do Rio Preto-SP (9 hrs);
- Disciplina: *Métodos e Técnicas da Pesquisa Científica*. Curso de **Farmácia Clínica (Instituto de Pesquisa Tecnológica e Controle de Qualidade - INTECQ)**. São José do Rio Preto-SP (16hrs);

**2008, 2º semestre:**

- Disciplina: *Atenção farmacêutica a portadores de moléstias digestivas, obesidade e diabetes*. Curso de **Especialização em Atenção Farmacêutica**, Fundação Educacional de Fernandópolis, Rondonópolis-MT (9 hrs).

**2009, 1º semestre:**

- Disciplina: *Métodos e Técnicas da Pesquisa Científica*. Curso de **Farmacologia Básica e Clínica (Universidade Estadual do Centro-Oeste - UNICENTRO)**, Guarapuava-PR (12hrs); Mês: maio.
- Disciplina: *Farmacologia e Atenção Farmacêutica em Situações Especiais*. Curso de **Farmácia Clínica e Atenção Farmacêutica (UNIRP)**. São José do Rio Preto-SP (4 hrs); Mês: maio.
- Disciplina: *Farmacologia e Atenção Farmacêutica em Situações Especiais*. Curso de **Farmácia Clínica e Atenção Farmacêutica (UNIRP)**. São José do Rio Preto-SP (9 hrs); Mês: abril.
- Disciplina: *Métodos e Técnicas da Pesquisa Científica*. Curso de **Farmácia Clínica e Atenção Farmacêutica (UNIRP)**. São José do Rio Preto-SP (9 hrs); Mês: julho.

**2010, 1º semestre:**

- Disciplina: *Farmacologia e Atenção Farmacêutica em Situações Especiais*. Curso de **Farmácia Clínica e Atenção Farmacêutica (UNIRP)**. São José do Rio Preto-SP (8 hrs); Mês: maio (22/05/2010).

**2011, 1º semestre:**


- Disciplina: *Farmacologia e Atenção Farmacêutica em Situações Especiais*. Curso de **Farmácia Clínica e Atenção Farmacêutica (UNIRP)**. São José do Rio Preto-SP (8 hrs);  
Mês: abril (30/04/2011).

## OMAR ARAFAT KDUSSI KHALIL


Tese apresentada ao Instituto de Química,  
Universidade Estadual Paulista, como parte  
dos requisitos para obtenção do título de  
Doutor em Biotecnologia.

Araraquara, 11 de julho de 2011.


### BANCA EXAMINADORA



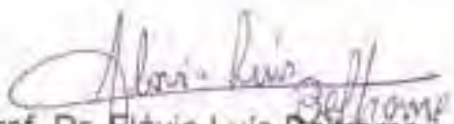
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Olga Maria Mascarenhas de Faria Oliveira (Orientadora)  
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



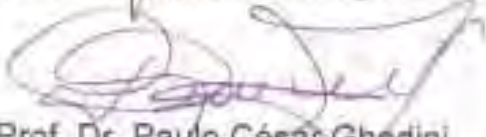
Prof. Dr. André Gonzaga dos Santos  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP, Araraquara



Prof. Dr. Roni Antonio Mendes  
Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL, Poços de Caldas



Prof. Dr. Flávio Luís Beltrame  
Setor de Ciências Biológicas e da Saúde – UFGP, Ponta Grossa



Prof. Dr. Paulo César Ghedini  
Instituto de Ciências Biológicas – UFGO, Goiânia

FICHA CATALOGRÁFICA

K45a Khalil, Omar Arafat Kdudsi  
Avaliação da interação entre a curcumina e o ácido  
ascórbico em ensaios de atividade antioxidante e  
antimicrobiana / Omar Arafat Kdudsi Khalil. – Araraquara :  
[s.n], 2011  
108 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista,

Instituto de Química

Orientador: Olga Maria Mascarenhas Faria de Oliveira  
Coorientador: José Carlos Rebuglio Velloso

1. Biotecnologia. 2. Estabilidade. 3. Antioxidante.  
4. Antimicrobiano. I. Título.

A minha vó,

Fahima,

Saudades...

## **Agradecimentos**

À Deus,

entre tantas outras coisas,

por colocar em meu caminho pessoas excepcionais,

Xucran!!!

*"Aprender sem pensar é tempo perdido"*

Confúcio.

## RESUMO

O excesso na geração de espécies reativas como os radicais livres pode resultar num desequilíbrio que, embora benéfico em casos específicos como no combate a microrganismos patógenos, está implicado na etiologia de diversas patologias crônicas e com o envelhecimento precoce. Muitos pesquisadores indicam o uso de antioxidantes como potenciais para a prevenção destas patologias e inclusive, algumas pesquisas com antioxidantes como a curcumina estão em etapas finais do desenvolvimento de novos medicamentos. Embora atividades biológicas como a antimicrobiana e antioxidante sejam bastante exploradas para várias substâncias, há um grande potencial para a investigação em relação às atividades de duas ou mais substâncias associadas. O ácido ascórbico, por exemplo, possui algumas atividades biológicas semelhantes às da curcumina, entretanto seu uso e custo são mais acessíveis. Deste modo, há perspectivas para investigações sobre os efeitos resultantes da associação entre a curcumina e o ácido ascórbico em relação a algumas atividades biológicas, com destaque para a curcumina. Assim, este trabalho objetivou determinar os efeitos resultantes desta associação em relação ao perfil de atividades antimicrobiana, antioxidante, hemolítica e na estabilidade da curcumina. Foram utilizadas metodologias de análise de atividade antioxidante como os ensaios de ação *scavenger* do DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup>, O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, HOCl e também por análise do sistema oxidativo catalisado por peroxidase. Em relação às análises celulares e antimicrobianas, foi determinada a toxicidade sobre eritrócitos e a atividade em relação à *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* e *Candida krusei*. A estabilidade da curcumina foi determinada por espectrofotometria. A associação resultou em um aumento da atividade antioxidante da curcumina frente ao DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup> e ao HOCl. Não foi possível determinar a ação das associações frente ao sistema oxidativo catalisado por peroxidase e ao O<sub>2</sub><sup>•-</sup>. A estabilidade da curcumina foi notadamente aumentada com a associação do ácido ascórbico nos pH 8,0 e 9,0. Em relação à atividade antimicrobiana, as moléculas não inibiram o crescimento das bactérias, entretanto houve um aumento da ação antifúngica da curcumina quando associada ao ácido ascórbico. Conclui-se que o ácido ascórbico atua positivamente em associação a curcumina em relação a sua ação antioxidante e antifúngica e que é possível que este efeito se deva a um aumento na estabilidade da curcumina, a uma regeneração da curcumina de sua forma radicalar para a forma não-radicalar ou até mesmo a uma ação oxidante em células fúngicas.

Palavras-chave: Curcumina. Ácido ascórbico. Estabilidade. Antioxidante. Antimicrobiano.



## ABSTRACT

The excessive generation of reactive species such as free radicals can result in an imbalance which is implicated in the etiology of various chronic diseases and premature aging, although it is beneficial in specific cases, such as in against microbial pathogens. Many researchers suggest the antioxidants usage to prevent these diseases. Some researches about curcumin and others antioxidants are even in final stages of developing new medicines. Although some biological activities are fully explored for various substances, there is great potential of research about the activities of two or more associated substances. Ascorbic acid, for example, has some biological activities similar to those of curcumin, but its use and cost are more accessible. Thus, there are prospects for research on the effects of the association between these molecules, especially curcumin, in relation to some biological activities. This study aimed to determine the effects of this association on antioxidant, antimicrobial and hemolytic activities of curcumin. Since this association can prevent the oxidative degradation of curcumin, it was also aimed to analyze the effects of ascorbic acid on the curcumin stability. Antioxidant activities were evaluated through DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup>, O<sub>2</sub><sup>•-</sup> and HOCl scavenging assays and guaiacol oxidation catalyzed by peroxidase. Regarding the cellular and microbial analysis, the toxicity was determined on erythrocytes and the antimicrobial activity was studied to *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* and *Candida krusei*. The stability of curcumin was determined spectrophotometrically. The combination resulted in a increase in antioxidant activity of curcumin against DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup> and HOCl. We were unable to determine the effect of the association against the oxidative system catalyzed by peroxidase and the radical O<sub>2</sub><sup>•-</sup>. The stability of curcumin was markedly increased with the combination of ascorbic acid in alkaline pH. In relation to antimicrobial activity, the molecules did not inhibit the growth of bacteria, although there was a increase in the antifungal action of curcumin when combined with ascorbic acid. It is concluded that ascorbic acid acts positively in combination with curcumin in relation to their antioxidant and antifungal properties, and this effect may be due to curcumin stability increasing by its regeneration from curcumin radical to form a non-radical or even due an oxidizing action in fungal cells.

Keywords: Curcumin. Ascorbic acid. Stability. Antioxidant. Antimicrobial.

## 1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, inúmeras pesquisas foram realizadas para compreender o papel das espécies reativas de oxigênio (ERO) em processos fisiopatológicos como, por exemplo, fibrose cística, doença respiratória aguda, asma, enfisema, envelhecimento, câncer, aterosclerose, inflamação, injúria por reperfusão e artrite reumatóide (TORRES et al., 2004). Doenças freqüentes na velhice e já consagradas como conseqüentes do estresse oxidativo incluem a doença de Parkinson, o acidente vascular cerebral, a doença de Alzheimer (o  $\beta$ -peptídeo amilóide ativa a mieloperoxidase), a esclerose múltipla e a catarata (ANDERSEN et al., 2003).

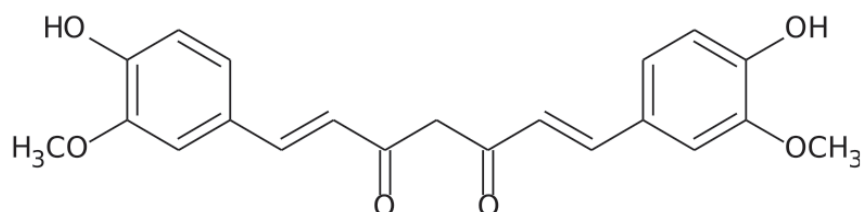
Neste cenário, o uso de substâncias com ação antioxidante se destaca tanto no meio científico quanto na mídia. As atribuições alegadas vão desde a ação antienvhecimento (GIACOMONI, 2008) até mesmo ao potencial tratamento de doenças, como observado em inúmeros ensaios clínicos (STEWART; GESCHER, 2008). Esses apelos são dirigidos principalmente aos produtos naturais obtidos de plantas, em função de vantagens relacionadas especialmente à menor toxicidade destas (CAO et al., 2009).

Velloso (2005) descreveu a ação de extratos brutos, frações e substâncias - principalmente compostos fenólicos naturais - isolados de diferentes plantas em relação à (ao): i) potencial seqüestrador de radicais livres ( $O_2^{\cdot-}$ ,  $NO^{\cdot}$ , e  $ABTS^{\cdot+}$ ) e neutralização de espécies reativas não radicalares ( $H_2O_2$  e  $HOCl$ ) e ii) inibição de peroxidases (*horseradish peroxidase* e mieloperoxidase), obtendo resultados promissores (VELLOSA et al., 2008).

As plantas medicinais desempenham um papel muito importante em saúde pública, principalmente em países em desenvolvimento (MOSSI et al., 2004). Extratos de diferentes vegetais e seus produtos derivados, como moléculas isoladas, têm mostrado atividades antioxidantes efetivas em diferentes sistemas e ensaios-modelo de análise antioxidante (SUN; HO, 2005). Compostos fenólicos oriundos do metabolismo secundário das plantas são, em geral, bons agentes antioxidantes naturais (ATOUI et al., 2005).

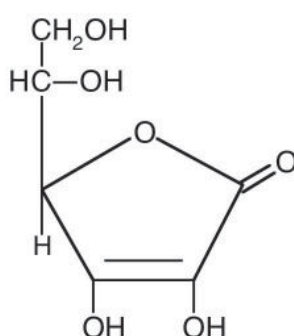
São bem conhecidos compostos fenólicos derivados de plantas que apresentam capacidade antioxidante, tais como polifenóis, carotenóides, catequinas do chá, entre outros (BLOCK et al., 2007). Destes, a curcumina (figura 1) têm se destacado nos últimos anos, em especial, com pesquisas relacionadas à sua atividade antiinflamatória, antitumoral e antioxidante (GOEL; KUNNUMAKKARA; AGGARWAL, 2008). Muitos artigos foram publicados descrevendo a atividade antioxidante desta molécula (RAMASSAMY, 2006) ou de análogos (PARVATHY; NEGI; SRINIVAS, 2009), entretanto poucos descrevem os efeitos antioxidantes sinérgicos ou antagônicos resultantes da associação de curcumina com outras moléculas. Entre

as associações estudadas, citam-se as com a quercetina (CRUZ-CORREA et al., 2006) e com a vitamina E (SAHOO; ROY; CHAINY, 2008). Até o momento, os efeitos resultantes da associação entre a curcumina e o ácido ascórbico (AA) em diferentes ensaios, como os de atividade antioxidante ou antimicrobiana foi pouco documentado em literatura científica.



**Figura 1. Estrutura da curcumina.**

Como aponta Tallarida (2001), a associação de duas ou mais substâncias pode resultar em efeitos terapêuticos mais eficazes, com redução no custo do tratamento e na incidência de efeitos colaterais para o paciente. Na terapêutica medicamentosa há vários exemplos de associação entre fármacos visando maior eficácia, como no caso dos antibióticos. Assim, a associação entre duas ou mais moléculas antioxidantes como a curcumina e o ácido ascórbico (figura 2) poderia levar a uma maior eficácia em relação a este tipo de atividade. Entretanto, é importante estabelecer as proporções ideais de cada antioxidante numa combinação, já que os antioxidantes podem atuar como pró-oxidantes, dependendo de sua concentração no local de ação.



**Figura 2. Estrutura do ácido ascórbico.**

Nos últimos anos, vêm se destacando a publicação de artigos que associam as atividades antioxidantes e antimicrobianas para produtos naturais. Em uma pesquisa no banco de dados do *Scencedirect* (<http://www.sciencedirect.com>, análise entre 1822 a 24 de março de 2009), utilizando os unitermos “*antimicrobial*”, “*antioxidant*” e “*natural product*”, apenas no campo

“palavras presentes no título, subtítulo e resumo”, foram publicados 84 artigos, dos quais 52 (62%) a partir de 2007; 64 (76%) a partir de 2005 e 72 (86%) a partir de 2003, o que demonstra o interesse mais recente em relação à investigação associada entre as duas atividades.

A busca por novas substâncias com atividade antimicrobiana se justifica principalmente pela crescente e preocupante resistência dos microrganismos aos antimicrobianos comerciais (KUMAR et al., 2005). Este fenômeno refere-se a cepas de microrganismos que são capazes de multiplicar-se em presença de concentrações de antimicrobianos mais altas do que as de doses terapêuticas dadas a humanos. O desenvolvimento de resistência é fenômeno biológico natural que se seguiu à introdução de agentes antimicrobianos na prática clínica (WANNMACHER, 2004). Exemplificando-se, entre 90–95% das cepas de *Staphylococcus aureus* do mundo são resistentes à penicilina (CASAL et al., 2005).

Nesse contexto, as plantas e seus derivados podem ser uma boa alternativa para a prospecção de novos antimicrobianos, pois são uma vasta fonte de antibióticos de baixa massa molecular, muitas vezes atuando como fitoalexinas. Além do mais, devido à intensa demanda por aditivos naturais, plantas e condimentos têm atraído cada vez mais interesse como alternativas para substituir agentes antimicrobianos e antioxidantes sintéticos (MAYACHIEW; DEVAHASTIN, 2008). A resistência aos agentes disponíveis requer não somente a pesquisa para a obtenção de novas substâncias, mas também o desenvolvimento de novas abordagens para o tratamento, como por exemplo, a associação entre produtos naturais e sintéticos (HEMAISWARYA; DOBLE, 2006). Muitas infecções já não podem ser tratadas com um único antibiótico devido ao rápido desenvolvimento de resistência pelo microrganismo patogênico (AL-BAYATI, 2008).

Assim, é importante a realização de trabalhos que estudem as ações de duas ou mais substâncias associadas em relação às atividades antimicrobianas e antioxidantes, pois poderão levar a uma maior eficácia do que em relação aos seus usos individualmente.

## 6 CONCLUSÕES

6.1 a curcumina foi mais eficiente que o ácido ascórbico como antioxidante nos ensaios de ação *scavenger* do DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup> e do HOCl, sendo que algumas associações das duas moléculas apresentaram efeitos consideravelmente maiores do que o da curcumina para o ensaio do DPPH<sup>•</sup> e do HOCl;

6.2 o ácido ascórbico promoveu um aumento da estabilidade da curcumina em pH 8,0 e 9,0, possivelmente pelo impedimento da degradação oxidativa da curcumina;

6.3 a curcumina apresentou atividade hemolítica concentração-dependente que foi reduzida quando o ácido ascórbico foi utilizado em associação; quando o agente hemolítico AAPH foi utilizado, tanto a curcumina quanto as associações apresentaram uma atividade protetora contra a hemólise. Este efeito protetor da associação foi concentração e tempo-dependente para algumas associações: quanto maior a concentração de ácido ascórbico e quanto maior o tempo de incubação, maior foi a proteção à hemólise causada pelo AAPH;

6.4 a curcumina e o ácido ascórbico não apresentaram ação antibacteriana nas concentrações e associações analisadas;

6.5 a curcumina apresentou ação antifúngica em *C. albicans* e *C. krusei*. Este efeito foi consideravelmente aumentado quando o ácido ascórbico foi utilizado em associação.