

Utilização da quimiluminescência do luminol para a determinação da capacidade antioxidante de fenóis substituídos e polihidroxibenzenos: comparação com outros ensaios

Camila R. Eckert^{1*} (PG), Carlos H. Esteves¹ (IC), Paulete Romoff² (PQ), Erick L. Bastos³ (PQ) e Wilhelm J. Baader¹ (PQ)

¹Instituto de Química - Universidade de São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 748 - Bloco 12 Sup. São Paulo – SP.

²Faculdade de Ciências Biológicas, Exatas e Experimentais - Universidade Presbiteriana Mackenzie, São Paulo – SP.

³Centro de Ciências Naturais e Humanas, Fundação Universidade Federal do ABC, Santo André – SP.

caeckert@iq.usp.br

Palavras Chave: Fenóis, atividade anti-radicalar, quimiluminescência, antioxidantes, luminol, flavonóides.

Introdução

A atividade antioxidante de fitoterápicos, infusões e extratos de plantas e produtos naturais isolados constitui um parâmetro importante para a avaliação do potencial para aplicação farmacêutica de matérias vegetais. Nosso grupo desenvolveu um método para a quantificação da atividade anti-radicalar, baseado na oxidação quimiluminescente do luminol por peróxido de hidrogênio/hemina.¹ Com o objetivo de esclarecer a relação estrutura/atividade anti-radicalar de flavonóides, em estudo no nosso grupo de pesquisa, alguns derivados fenólicos simples foram investigados como compostos-modelo, utilizando-se, além do ensaio quimiluminescente com luminol, um ensaio espectrofotométrico no qual a atividade anti-radicalar dos compostos é determinada pelo seqüestro do radical estável 2,2'-difênil-1-picrilidrazil (DPPH) observado pela absorbância em 515 nm.³

Resultados e Discussão

A adição dos compostos-modelo ao ensaio luminol leva à observação dos seguintes efeitos: (i) A adição do composto resulta na diminuição da intensidade de emissão até um valor próximo a zero. Após certo tempo, a intensidade de emissão inicial (I_0) é reestabelecida, indicando o consumo completo do aditivo. Da área de inibição (em relação à curva cinética obtida na ausência do aditivo) obtêm-se os valores de capacidade anti-radicalar n , expressos em relação ao padrão trolox ($n = 2$).¹ (ii) A adição do composto leva à supressão parcial da emissão (I), dependendo da [aditivo]. Um parâmetro para a reatividade anti-radicalar do aditivo (R) pode ser obtido nestes casos; através da relação entre $I_0 - I/I_0$ e a [aditivo]. (iii) Observa-se um aumento na intensidade de emissão para alguns compostos-modelo, o qual depende também da [aditivo].

No ensaio com DPPH observa-se, dependendo da concentração do aditivo, uma diminuição da absorbância deste radical em 515 nm, da qual é obtido um valor da capacidade anti-radicalar (n^*);

neste ensaio não foi possível ainda obter-se valores para a reatividade anti-radicalar. Os resultados obtidos nestes estudos até o momento mostram que existe uma discrepância grande entre os valores de n obtidos com os dois ensaios (Tabela 1).

Tabela 1: Capacidade Anti-Radicalar n (ensaio luminol), n^* (ensaio DPPH), Reatividade Relativa (R) e Efeito Amplificador (Ampl) de Fenóis.

composto	n	n^*	R (mM^{-1})	Ampl
fenol	a	a	0,00687	c
catecol	0,37	5,4	b	c
resorcinol	1,16	0,03	0,41400	c
hidroquinon	a	2,0	b	1,3 – 40 ^d
pirogalol	a	6,4	b	2,5 – 50 ^d
floroglucinol	a	0,8	0,00644	c
<i>p</i> -flúorfenol	a	a	0,01390	c
<i>p</i> -clorofenol	a	0,001	b	c
<i>p</i> -bromofenol	a	a	0,00023	c
<i>p</i> -iodofenol	a	a	0,00043	c
<i>p</i> -nitrofenol	a	a	0,00845	c
<i>p</i> -cianofenol	0,0003	0,007	b	c
<i>p</i> -metoxifenol	4,00	1,1	b	c
<i>p</i> -aminofenol	1,60	3,4	b	c

^a não foi possível obter um valor para o parâmetro n destes compostos; ^b não foi possível determinar a Reatividade Relativa destes compostos; ^c estes compostos não mostram efeito amplificador; ^d [AOH] (μM).

Conclusões

Os resultados obtidos, serão discutidos com base no mecanismo da oxidação quimiluminescente do luminol² e os mecanismos propostos de inibição e de amplificação.¹

Agradecimentos

À FAPESP e CNPq pelo auxílio financeiro.

¹ Bastos, E. L.; Romoff, P.; Eckert, C. R.; Baader, W. J.; *J. Agric. Food Chem.*; **2003**, *51*, 7481.

² Baader, W.J.; Stevani, C.V.; Bastos, E.L.; “Chemiluminescence of Organic Peroxides”; Cap. 17, p. 1211 – 1278; em “*Organic Peroxides*”; ed. Rappoport, Z.; Wiley & Sons, Ltd; Chichester; **2006**.