

Determinação da atividade anti-radicalar utilizando-se a quimiluminescência do luminol em meios micelares e o radical estável DPPH.

Sandro de Oliveira (PG)^{*1,2}, Luciana Vaquero (IC)¹, Cerize S. Santos (PG)¹ e Wilhelm J. Baader (PQ)¹

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

² Faculdades Oswaldo Cruz, Rua Brigadeiro Galvão, 540, São Paulo – SP.

profsandro@usp.br

Palavras Chave: quimiluminescência, luminol, atividade anti-radicalar, antioxidantes, meio micelar

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 Posteriormente foi desenvolvido também um ensaio análogo utilizando-se a quimiluminescência do luminol em meios micelares catiônicas, o que permite determinar a atividade anti-radicalar de compostos lipofílicos.²

Nesta comunicação serão relatados os resultados obtidos em um estudo da quimiluminescência do luminol em meios micelares de SDS (dodecil sulfato de sódio), os quais levaram ao estabelecimento de um ensaio da atividade anti-radicalar neste sistema micelar aniônico. Além disso, foi estabelecido no laboratório um ensaio da atividade anti-radicalar utilizando-se o radical estável 2,2'-difênil-1-picril-hidrazila (DPPH) o qual pode ser facilmente quantificado pela absorvância em 515 nm. A atividade de vários compostos antioxidantes conhecidos, entre eles as vitaminas C e E, o trolox e diversos flavonóides, foi determinada, utilizando-se os diferentes ensaios para a determinação da capacidade anti-radicalar, baseados na quimiluminescência do luminol e o ensaio com o radical estável DPPH.

Resultados e Discussão

Inicialmente foi caracterizado o sistema quimiluminescente do luminol e peróxido de hidrogênio catalisado por hemina em meio aquoso contendo o surfactante SDS, através de medidas cinéticas da intensidade de emissão de luz. A intensidade de emissão (que é uma medida para a velocidade da reação) mostrou dependência linear com a concentração de hemina (7,7 nM a 400 nM) e peróxido de hidrogênio (5,0 a 60 µM) mantendo-se as concentrações de luminol (0,1 mM) e SDS (12,0 mM) constante. Por outro lado, o aumento da [luminol] até 1 µM leva ao aumento linear da intensidade de emissão, porém, um aumento para 32^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

concentrações acima de 20 µM mantém constante a intensidade de emissão. Deve-se mencionar ainda que, em todas as condições reacionais utilizadas, não ocorreu consumo significativo dos reagentes empregados, ou seja, as cinéticas de intensidade de emissão não mostraram decaimentos significativos, condições ideais para um ensaio da determinação da capacidade anti-radicalar. As condições reacionais otimizadas para o ensaio anti-radicalar em meio de micelar aniônicas foram: [luminol] = 0,1 mM, [hemina] = 77 nM, [H₂O₂] = 10 µM, [SDS] = 12 mM, tampão fosfato de pH = 11,6.

Os resultados iniciais da comparação entre os diferentes ensaios levaram as seguintes observações: (i) vitamina E mostrou um valor de n=2 no ensaio com DPPH e 3,5 no ensaio luminol/CTAB; (ii) ácido úrico mostra valores muito similares nos três ensaios com luminol (n = 1,1 a 1,4), não podendo ser medido com o ensaio DPPH em etanol devido a sua baixa solubilidade neste solvente; (iii) quercetina mostra valores similares nos ensaios com luminol em água (n = 3,6) e CTAB (n = 3,8), porém um valor maior DPPH (n = 4,9) e muito menor com luminol/SDS (n = 1,1); (iv) rutina mostra valores idênticos com DPPH e com luminol/CTAB (n = 4,0), porém valores muito menores com luminol/aquoso (n = 1,3) e com luminol/SDS (n = 1,6); (v) para vitamina C foi óbito uma valor muito baixo no sistema luminol/aquoso (n = 0,44), porém, no sistema DPPH o valor obtido é muito maior (n = 1,9).

Conclusões

Foi estabelecido um ensaio para a determinação da capacidade anti-radicalar em SDS. A comparação entre diferentes ensaios mostra a divergência nos valores obtidos, indicando que estes devem ser interpretados com cuidado.

Agradecimentos

Ao CNPq e à Fapesp pelo auxílio financeiro.

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

² Cerize S. Santos, Dissertação de Mestrado, "Oxidação Quimiluminescente do Luminol em Meios Micelares: Desenvolvimento de um Ensaio para Determinação da Capacidade Anti-radicalar." Instituto de Química, Universidade de São Paulo, 2008.