

## Determinação da Atividade Anti-radicalar de Flavonóides e Fenóis Através do Ensaio com DPPH.

Sandro de Oliveira (PG)<sup>\*1,2</sup> e Wilhelm J. Baader (PQ)<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Faculdades Oswaldo Cruz, Rua Brigadeiro Galvão, 540, São Paulo – SP.

profsandro@usp.br

Palavras Chave: DPPH, atividade anti-radicalar, antioxidantes, meio ácido

### Introdução

Substâncias polifenólicas encontradas em extratos vegetais apresentam atividade anti-radicalar com potencial antioxidante que inibem o estresse oxidativo causado por Espécies Reativas de Oxigênio (ERO), despertando grande interesse no seu estudo com aplicação nas áreas alimentícia, biológica, farmacêutica e médica. Nessa classe de compostos, podemos destacar os flavonóides que ocorrem em abundância nos vegetais e apresentam notável capacidade anti-radicalar. Uma grande variedade de testes, incluindo métodos químicos, físicos e bioquímicos têm sido amplamente utilizados na investigação e caracterização de antioxidantes naturais e sintéticos, reportados em diversos trabalhos científicos.

Neste trabalho são mostrados resultados de estudos cinéticos da reação entre o radical estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) e alguns compostos anti-radicalares em solvente misto (etanol/água) e em meio ácido, determinando condições experimentais que permitam a realização desses ensaios em meio ácido e em soluções hidro-alcoólicas, possibilitando a análise da atividade anti-radicalar de espécies que mantêm a integridade da estrutura apenas em pHs ácidos e em solução aquosa. A capacidade anti-radicalar é medida a partir da variação da absorbância ( $\lambda = 515 \text{ nm}$ ) em certo intervalo de tempo de reação; a reação do radical estável com um composto anti-radicalar (AOH), leva à formação da hidrazina correspondente e do radical do composto anti-radicalar ( $\text{AO}^{\bullet}$ ). A quantificação da capacidade anti-radicalar dos compostos estudados foi feita pela análise dos coeficientes angulares, obtidos graficamente pela variação da absorbância ( $\Delta\text{Abs}$ ), observada nas cinéticas experimentais da reação entre o DPPH e os anti-radicalares, em função de suas concentrações.

### Resultados e Discussão

Inicialmente foi caracterizado o sistema DPPH em etanol e 1% de ácido etanóico. A variação da absorbância mostrou dependência linear com a concentração de anti-radicalar ( $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  a  $30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) e DPPH ( $80 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) mantendo-se 1% em

volume de ácido etanóico constante. Posteriormente foi estudado o comportamento do ensaio da determinação da capacidade anti-radicalar em solvente hidro-alcoólico (solução de etanol e água). As condições reacionais foram semelhantes às anteriores, usando para o ensaio:  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  a  $30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  de composto anti-radicalar, DPPH  $80 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 1% em volume de HOAc e 10% em volume de água.

Os coeficientes angulares obtidos da correlação linear entre  $\Delta\text{Abs}$  e a  $[\text{AOH}]$  se mostraram próximos nas diferentes condições experimentais, levando a valores de  $n$ , obtidos da comparação com o padrão trolox ( $n = 2$ ), para os diferentes ensaios com DPPH similares (Tabela 1).

**Tabela 1:** Valores de  $n$ , número de radicais seqüestrados por molécula de composto anti-radicalar, para catecol e quercetina, obtidos em diferentes condições experimentais.

Anti-radicalar – condição experimental	$n [(\alpha\text{A}/\alpha\text{T}) \cdot 2]$
Catecol – Padrão	$2,6 \pm 0,1$
Catecol – 1% HOAc	$1,8 \pm 0,1$
Catecol – 1% HOAc e 10% H <sub>2</sub> O	$2,0 \pm 0,1$
Quercetina – Padrão	$4,7 \pm 0,1$
Quercetina – 1% HOAc	$3,8 \pm 0,2$
Quercetina – 1% HOAc e 10% H <sub>2</sub> O	$3,6 \pm 0,2$

### Conclusões

Foi estabelecido um ensaio para a determinação da capacidade anti-radicalar em meio ácido com solvente hidro-alcoólico. A comparação entre os diferentes ensaios demonstra a viabilidade do método, uma vez que não há divergência significativa nos valores obtidos. Esses resultados podem orientar futuros estudos de capacidade anti-radicalar em meio tamponado e com diferentes razões de etanol e água.

### Agradecimentos

A Capes e a Fapesp pelo auxílio financeiro.

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

<sup>2</sup> Musialik, M.; Kuzmicz, R.; Pawłowski, S.; Litwinienko, G.; *J. Org. Chem.* **74**, 2699–2709 (2009).