

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIRRADICALAR DE EXTRATOS DE ESPÉCIES DE BAMBUS *Guadua angustifolia* E *Phyllostachys makinoi*

Luciana Barros Camargo (IC) e Edgard Antonio Ferreira (Orientador)

Apoio: PIBIC CNPq

RESUMO

O Brasil apresenta mais de 350 espécies nativas de bambus, além das espécies exóticas que se adaptaram perfeitamente ao solo e clima. As folhas são ricas em substâncias fenólicas, que apresentam capacidade de reagir com radicais livres. Os radicais livres são espécies reativas que provocam danos as células do organismo podendo ocasionar o processo de envelhecimento precoce e doenças associadas a grande produção de tais espécies, como câncer e doenças neurodegenerativas. Com intuito de avaliar o potencial das folhas das espécies *Guadua angustifolia* e *Phyllostachys makinoi* como fonte de substâncias antirradicalares, os extratos brutos das folhas foram gerados em metanol por maceração. Pelo processo de partição líquido-líquido utilizando solventes em ordem crescente de polaridade (hexano, acetato de etila e butanol) os respectivos extratos foram obtidos. Estes foram então submetidos a avaliação preliminar da atividade antirradicalar em placa cromatográfica com aspersão de solução do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), obtendo-se um resultado qualitativo sendo possível observar o potencial de tais espécies como fonte de substâncias antirradicalares. Para quantificar a atividade antirradicalar, os extratos foram avaliados pela supressão da absorbância do DPPH em diferentes concentrações. Os resultados foram expressos em IC₅₀ e pela porcentagem equivalente de Trolox®, além da comparação dos resultados com a substância controle quercetina. Os resultados indicaram que o extrato em butanol da espécie *Phyllostachys makinoi* foi o mais representativo com valor de IC₅₀ de 18,27 ± 3,78 µg/mL quando comparado com a quercetina (10,78 ± 0,82 µg/mL) e porcentagem equivalente de trolox de 93,49 %.

Palavras-chave: Atividade antioxidante, radical livre, DPPH.

ABSTRACT

Brazil has more than 350 native species of bamboo, in addition to the exotic species that have adapted perfectly to the soil and climate. The leaves are rich in phenolic substances, which have the ability to react with free radicals. Free radicals are reactive species that cause damage to the body's cells and can lead to the early aging process and diseases associated with large production of such species, as cancer and neurodegenerative diseases. In order to evaluate the potential of leaves of the species *Guadua angustifolia* and *Phyllostachys makinoi*

as source of antiradical substances, crude extract in methanol was generated by maceration and liquid-liquid partitioning process using solvents in increasing polarity order (hexane, ethyl acetate and butanol) the respective extracts were obtained. These were then subjected to a preliminary evaluation of the antiradical activity in a chromatographic plate with a solution of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical (DPPH) solution, obtaining a qualitative result, being possible to observe the potential of such species as source of antiradical substances. To quantify antiradical activity, the extracts were evaluated by suppressing the DPPH absorbance at different concentrations. The results were expressed in IC₅₀ and by the equivalent percentage of Trolox[®], in addition to the comparison of the results with the quercetin control substance. The results indicated that the butanol extract of *Phyllostachys makinoi* was the most representative with IC₅₀ value of $18.27 \pm 3.78 \mu\text{g} / \text{mL}$ when compared to quercetin ($10.78 \pm 0.82 \mu\text{g} / \text{mL}$) and percentage trolox equivalent of 93.49%.

Keywords: Antioxidant activity, free radical, DPPH.

1. INTRODUÇÃO

Estima-se que exista entre 1200 e 1500 espécies de bambu distribuídas pelas regiões tropicais do globo terrestre. O Brasil conta com mais de 350 espécies nativas de bambus, além das espécies exóticas introduzidas que se adaptaram ao solo e clima. No entanto, a quantidade de estudos envolvendo de espécies de bambus está distante da quantidade de espécies em território nacional. As folhas de bambu são ricas em substâncias fenólicas, que apresentam capacidade de reagirem com radicais livres, espécies que provocam danos as células do organismo como envelhecimento precoce e doenças associadas a grande produção de tais espécies. No entanto, quando se faz uso do bambu, utiliza-se somente o colmo “caule”, com as folhas sendo descartadas.

Diante da significativa quantidade de espécies de bambus encontradas em solo brasileiro, aliado ao potencial efeito antioxidante das espécies químicas presentes das folhas e ao descarte destas, tais espécies vegetais carecem de estudos para potencializar sua aplicação em diversos segmentos, entre eles o setor cosmético.

Com isto, este estudo busca avaliar a capacidade das folhas de tais espécies como fonte de substâncias antioxidantes através da obtenção de extratos almejando aplicação na indústria cosmética na formulação de produtos “anti-idade” por combater o efeito deletério de radicais livres nas camadas da pele.

O presente projeto tem como objetivo a avaliação da atividade antirradicalar dos extratos em hexano, acetato de etila, butanol e metanol das folhas das espécies de bambus *Phyllostachys makinoi* e *Guadua angustifolia* por dois métodos, reação dos extratos com o radical 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH) em placa cromatográfica e por espectrometria na região UV-VIS pela supressão da absorbância do DPPH no comprimento de onda de 517 nm pela reação com os extratos. Os resultados quantitativos foram expressos pelo valor de IC₅₀ e pelo cálculo da porcentagem equivalente de Trolox®, além da comparação dos resultados com a substância controle quercetina.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Bambu

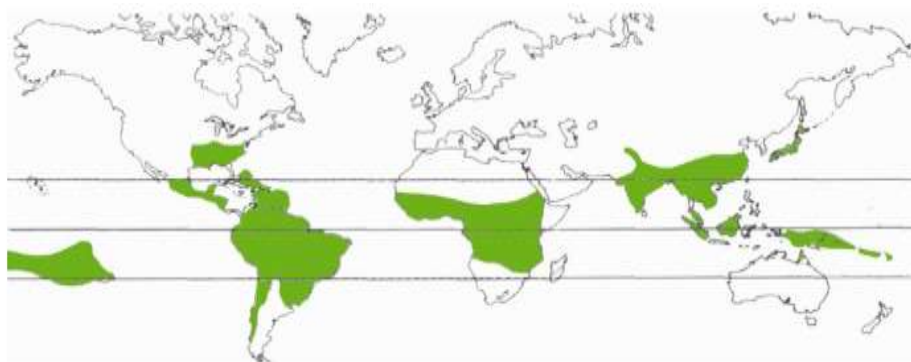
O bambu é uma gramínea que serviu de alimento para animais por milhões de anos, hoje a planta é empregada como biomassa para a produção de energia, material de engenharia civil e arquitetura, matéria-prima para móveis, objetos de decoração e papel, entre outras finalidades. (CHAOWANA, 2013)

Nenhuma outra planta desempenha papel tão importante na Ásia como o Bambu que é utilizada nos mais diversos seguimentos da sociedade asiática. Segundo relatos, há 2 mil

anos atrás já havia plantações de bambu com finalidade comercial para as mais diversas áreas (LAWS, 2013).

Estima-se que exista entre 1200 e 1500 espécies de bambus que estão distribuídas em aproximadamente 90 gêneros. As espécies estão distribuídas geograficamente em regiões tropicais, subtropicais e temperadas (**Figura 1**). (HIDALGO-LOPES, 2003)

Figura 1: Distribuição das espécies de bambu no mundo. (Fonte: HIDALGO-LOPES, 2003)



O bambu é uma planta tropical fácil de ser encontrada em diversos países do mundo, com destaque para a China e alguns países da América Latina, especialmente o Brasil devido a grande quantidade de espécies nativas. O Brasil é o país com maior número de tipos de bambu da América Latina e o segundo maior no mundo, apenas atrás da China. O país possui mais de 350 espécies da planta, no entanto as espécies são pouco conhecidas e aproveitadas pelos brasileiros. (CANAVAN, et. al, 2016)

2.2. Aspectos químicos e biológicos

Apesar do grande número de espécies de bambus, muitas espécies não apresentam qualquer descrição da composição química ou propriedades biológicas.

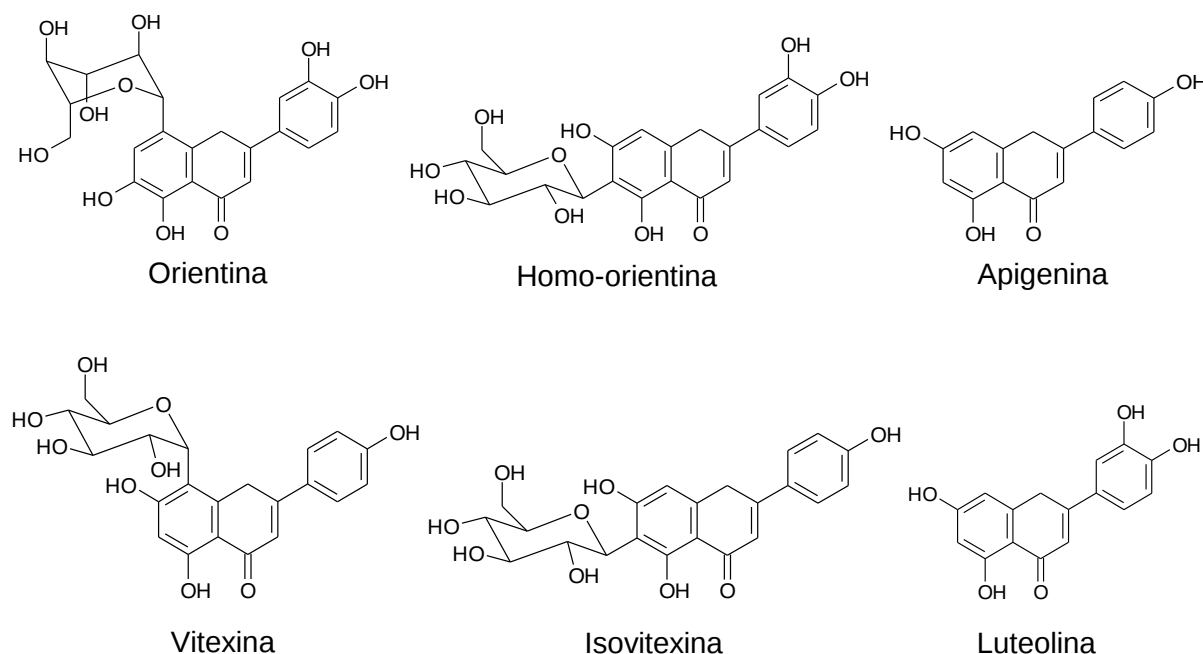
Entre as espécies que tiveram o estudo fitoquímico realizado, os constituintes químicos essencialmente isolados foram os flavonóides.

Os flavonóides são substâncias polifenólicas que formam um grande grupo de metabólitos secundários contando com mais de 8000 substâncias descritas. (KOIRALA et. al, 2016) Os flavonóides apresentam grande potencial biológico, sendo descrito na literatura uma vasta gama de atividades farmacológicas, como antioxidante, hepatoprotetora, antibactericida, anti-inflamatória, antitumoral, antiviral (KUMAR e PANKEY, 2013).

Os flavonóides comumente isolados em espécies de bambu são as flavonas e isoflavonas, como exemplo tem-se a orientina, homoorientina, vitexina, isovitexina, apigenina,

luteolina e entre outros análogos glicosilados em diferentes posições (TANAKA, et al., 2014, ZHANG et. al., 2008) (Figura 2).

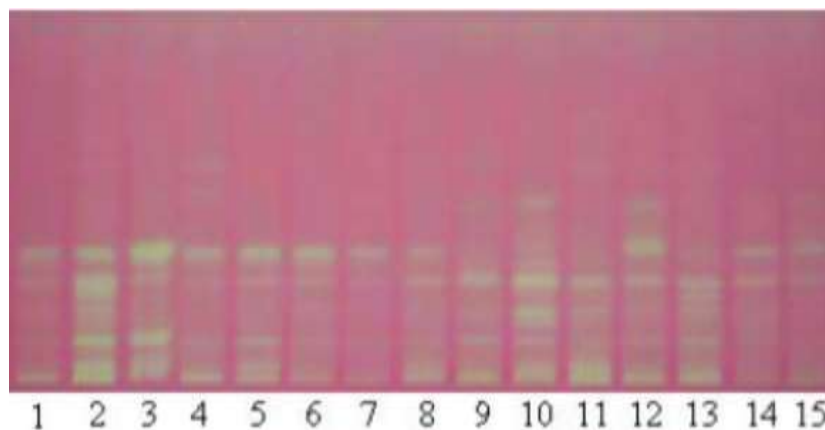
Figura 2: Flavonóides já identificados em espécies de bambus.



No que diz respeito a atividade biológica dos extratos e substâncias isoladas, a atividade antioxidante tem grande destaque, devido à alta concentração de tais substâncias fenólicas.

Estudo realizado por Wang e colaboradores com quinze espécies de bambus demonstrou o potencial de atividade antioxidante de todas as espécies estudadas (WANG, et. al, 2012). De acordo com a figura 3, cada *spot* amarelo indica a presença de substância com atividade antioxidante.

Figura 3: Avaliação da atividade antioxidante de extratos de quinze espécies de bambus. (Fonte: WANG, et. al, 2012).



O gênero *Guadua* apresenta 38 espécies. As espécies são encontradas na América Central e América do Sul com ocorrência desde o México e América do Sul. (SCHRÖDER, 2010a)

O gênero *Phyllostachys* conta com 75 espécies e é nativo da região temperada da China. (RENVOIZE, 1995)

Entre as espécies estudadas, *G. angustifolia* e *P. makinoi* não há informações na literatura a respeito dos constituintes químicos.

2.3. Atividade antioxidante (antirradicalar)

As substâncias com ação antioxidante são aquelas que estão associadas ao processo de retardamento das reações de degradação oxidativa. Este processo está intimamente ligado a formação de radicais livres e é espontâneo ocorrendo nos sistemas biológicos com a formação de espécies reativas como radicais hidroxila ($\text{HO}\cdot$), peróxido ($\text{ROO}\cdot$), alcóxido ($\text{RO}\cdot$), entre outros. (Oliveira et al., 2014) No entanto, ao longo do progresso e industrialização os níveis de poluição, o aumento da incidência da radiação ultravioleta, o consumo de tabaco, bebidas alcoólicas e alimentos industrializados aumentaram e com isto as pessoas ficaram mais expostas a substâncias e condições que provocam um aceleração na produção dos radicais livres. A alta produção de radicais livres leva ao processo de estresse oxidativo, que é um desequilíbrio entre formação de espécies reativas e compostos que agem na inibição de tais espécies reativas. Como consequência, pode ocorrer o envelhecimento precoce e doenças associadas a formação destes radicais livres. (NIMSE, 2015) Assim, as substâncias antioxidantes são aquelas que são capazes de prevenir ou retardar a oxidação por inativar os radicais gerados pela doação de elétrons ou hidrogênio e com isto formar espécies químicas estáveis.

3. METODOLOGIA

3.1. Generalidades metodológicas

Os solventes utilizados nas extrações e partições líquido-líquido foram de grau PA.

Para a análise preliminar da atividade antirradicalar das soluções dos extratos vegetais foram utilizadas placas cromatográficas de camada delgada analítica (CCDA) de sílica gel 60 PF₂₅₄, sobre suporte de alumínio da Merck.

Nos ensaios de avaliação da atividade antirradicalar foi utilizado o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil 97% (DPPH) da Sigma-Aldrich.

Nos ensaios de avaliação da atividade antirradicalar por CCDA foi utilizado o flavonóide quercetina dihidratada 95% da Aldrich como substância antirradicalar controle.

Nos ensaios de avaliação da atividade antirradicalar foi utilizado como substância controle o flavonóide quercetina dihidratada 95% da Aldrich.

Para os ensaios de atividade antirradicalar pelo método da capacidade oxidante em porcentagem de Trolox® foi utilizado o ácido 6-hidróxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox®) da Sigma-Aldrich.

Para os ensaios da atividade antirradicalar pelo método da capacidade oxidante em porcentagem de Trolox foi utilizado o espectrofotometro UV-VIS da marca Agilent modelo 8453. As análises foi realizadas em cubetas de quartzo da marca Fireflysci com passo ótico de 10 mm.

3.2. Coleta do material vegetal e preparo dos extratos metanólicos

As folhas das espécies *Phyllostachys makinoi* e *Guadua angustifolia* foram obtidas junto ao banco de Germoplasma da Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Agronegócios do Bambu localizado na cidade de Tatuí/SP.

O material vegetal recém obtido, foi submetido à secagem em estufa sob ventilação a 45°C por 24 horas, visando eliminação total de água.

3.2.1. Preparo do extrato metanólico da espécie *Guadua angustifolia*

As folhas secas moídas foram submetidas a um processo extrativo, onde 60 g foram adicionados a um erlenmeyer de 1000 mL, e a este foi adicionado 300 mL de metanol. As folhas permaneceram em contato com o solvente por trinta minutos, e então, o solvente foi removido por filtração. As folhas foram submetidas a este mesmo processo de extração com mais sete porções de 300 mL metanol. Em seguida, as fases orgânicas foram reunidas e o solvente removido sob pressão reduzida para gerar o extrato em metanol.

3.2.2. Preparo do extrato bruto da espécie *Phyllostachys makinoi*

As folhas secas moídas foram submetidas a um processo extraivo, onde 160 g foram adicionados a um erlenmeyer de 2000 mL, e a este foi adicionado 500 mL de metanol. As folhas permaneceram em contato com o solvente por trinta minutos, e então, o solvente foi removido por filtração. As folhas foram submetidas a este processo de extração com mais

sete porções de 500 mL metanol. Em seguida, as fases orgânicas foram reunidas e o solvente removido sob pressão reduzida para gerar o extrato em metanol.

3.3. Fracionamento dos extratos metanólicos

Com o intuito de fracionar os extratos metanólicos em extratos de diferentes polaridades ambos extratos foram submetidos a um processo de partição líquido-líquido em ordem crescente de polaridade.

3.3.1. Fracionamento do extrato da espécie *Guadua angustifolia*

O extrato metanólico da espécie *Guadua angustifolia* (15,91 g) foi ressuspendido em 500 mL de uma solução de metanol/água (10:90 / v:v) e transferido para um funil de separação de 2000 mL. A esta suspensão foi realizada sucessivas lavagens com solventes em porções de 150 mL em ordem crescente de polaridade (hexano, acetato de etila e butanol).

As amostras obtidas foram concentradas em evaporador rotatório sob pressão reduzida obtendo-se, então, os respectivos extratos em hexano (1,52 g), acetato de etila (0,92 g) e butanol (2,48 g).

3.3.2. Fracionamento do extrato da espécie *Phyllostachys makinoi*

O extrato metanólico da espécie *Phyllostachys makinoi* (13,75 g) foi ressuspendido em 500 mL de uma solução de metanol/água (10:90 / v:v) e transferido para um funil de separação de 2000 mL. A esta suspensão foram realizadas sucessivas lavagens com solventes em porções de 150 mL em ordem crescente de polaridade (hexano, acetato de etila e butanol).

As amostras obtidas foram concentradas em evaporador rotatório sob pressão reduzida obtendo-se, então, os respectivos extratos em hexano (3,35 g), acetato de etila (0,90 g) e butanol (2,13g).

3.4. Avaliação da atividade antirradicalar dos extratos por CCDA com DPPH

A avaliação preliminar da atividade antioxidante foi realizada pela reação dos extratos com solução do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) em placa cromatográfica de camada delgada conforme metodologia descrita por SOLER-RIVAS e colaboradores (2000).

Para tal, soluções estoques dos extratos em metanol para ambas espécies foram preparadas com concentração de 10 mg/mL. A partir das soluções estoque soluções de

concentração 5 mg/mL, 2,5 mg/mL e 1,0 mg/mL foram preparadas por diluição e aplicadas na forma de *spot* com o auxílio de uma micropipeta um volume de 2 µL dispostas da maior concentração para a menor concentração.

Como substância controle, foi utilizado uma solução de Quercetina com concentração de 1,0 mg/mL e aplicada na placa cromatográfica com o auxílio de uma micropipeta um volume de 2 µL.

Após a volatilização do solvente dos extratos aplicados, foi aplicado por aspersão uma solução metanólica de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) de concentração 0,4 mmol L⁻¹, solubilizado em metanol sobre a placa cromatográfica que contém os extratos.

3.5. Avaliação da atividade antirradicalar pela supressão da absorbância do DPPH

Com o intuito de quantificar a atividade antirradicalar, os extratos em acetato de etila, butanol e metanol foram avaliados pelo ensaio espectrométrico com base na supressão da absorbância do radical DPPH no comprimento de onda 517 nm em diferentes concentrações das soluções dos extratos.

Os ensaios foram realizados em triplicata e a partir dos resultados, foi gerado a curva analítica com base na média dos valores obtidos para cada extrato. As substâncias com atividade antirradicalar presentes nos extratos reagem com o DPPH, o radical livre, portanto, um extrato que apresenta alto potencial antirradicalar, reduzirá o a absorbância do DPPH, conforme aumenta-se a concentração de extrato.

A quantificação da atividade antirradicalar, foi realizada pelo cálculo do IC₅₀, o qual se estima a concentração do extrato para inibir 50% do radical DPPH. Portanto, um extrato que possui uma grande capacidade antirradicalar, terá que apresentar um valor baixo de IC₅₀, ou seja, é aquele que necessita de uma pequena concentração de extrato para apresentar uma grande atividade. Para tal, foi calculado a porcentagem de inibição conforme equação 1.

$$\text{Inibição \%} = \frac{(\text{Absbranco} - \text{abs amostra})}{\text{Abs branco}} \cdot 100 \quad (\text{EQUAÇÃO 1})$$

Em seguida foi construída uma curva com os valores de porcentagem de inibição do DDPH em função da concentração do extrato utilizando o software Microcal Origin 7.0. Assim, o valor de IC₅₀ é obtido por meio da regressão linear.

Os valores expressos na curva analítica foram obtidos como média ± desvio padrão de três experimentos sob mesma condição para todos os extratos.

Além deste método de quantificação, o estudo da atividade antirradicalar também foi realizado pelo método da capacidade oxidante em porcentagem de ácido 6-hidróxi-2,5,7,8-

tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox®) proposto por Oliveira e colaboradores (2014), que se avalia o potencial antirradicalar pela comparação em porcentagem com a substância antirradicalar Trolox®, pela relação entre o coeficiente angular da amostra de extrato (αA) e o coeficiente angular da substância Trolox® conforme equação 2.

$$\%T = \frac{\alpha A}{\alpha T} \cdot 100 \quad (\text{Equação 2})$$

3.6. Avaliação da atividade antirradicalar dos extratos de *Guadua angustifolia*

A partir das fases orgânicas em acetato de etila, butanol e metanol, foram preparadas as respectivas soluções estoques com concentração de 1 mg/mL.

Em seguida, foram preparadas soluções a partir da solução estoque em diferentes concentrações conforme segue:

- a) Acetato de etila: 100 µg/mL; 80 µg/mL; 60 µg/mL; 40 µg/mL e 20 µg/mL.
- b) Butanol: 100 µg/mL; 75 µg/mL; 50 µg/mL; 25 µg/mL e 10 µg/mL
- c) Metanol: 100 µg/mL; 75 µg/mL; 50 µg/mL; 25 µg/mL e 10 µg/mL,

Por seguinte, preparou-se uma solução metanólica de DPPH com concentração de 0,1 mmol L⁻¹.

Previamente, no espectrofotômetro, foram feitas as leituras das soluções em triplicata, utilizando-se do metanol como branco. Posteriormente, em um frasco âmbar, foi preparada uma solução pela adição de 1 mL de solução de DPPH e 3 mL de metanol, que foi homogeneizado e transferido para uma cubeta de quartzo e obtido um espectro da solução diluída de DPPH no comprimento de onda de 517 nm. Seguidamente, as soluções com diferentes concentrações, foram diluídas com DPPH na proporção de 3 mL de solução de extrato e 1 mL de DPPH, que permaneceram em repouso por 30 minutos em repouso, até a leitura da amostra.

Com isso, foram obtidas as seguintes concentrações finais para cada extrato:

- a) Acetato de etila: 75 µg/mL; 60 µg/mL; 45 µg/mL; 30 µg/mL e 15 µg/mL.
- b) Butanol: 75 µg/mL; 56,25 µg/mL; 37,5 µg/mL; 18,75 µg/mL e 7,5 µg/mL.
- c) Metanol: 75 µg/mL; 56,25 µg/mL; 37,5 µg/mL; 18,75 µg/mL e 7,5 µg/mL.

3.7. Avaliação da atividade antirradicalar pela supressão da absorbância do DPPH das fases orgânicas de *Phyllostachys makinoi*

A partir das fases orgânicas em acetato de etila, butanol e metanol, foram preparadas as respectivas soluções estoques com concentração de 1 mg/mL.

Em seguida, foram preparadas soluções a partir da solução estoque em diferentes concentrações conforme segue:

a) Acetato de etila: 130 µg/mL; 100 µg/mL; 70 µg/mL; 40 µg/mL e 10 µg/mL.

b) Butanol: 45 µg/mL; 30 µg/mL; 22,5 µg/mL; 7,5 µg/mL e 10 µg/mL

c) Metanol: 100 µg/mL; 80 µg/mL; 60 µg/mL; 40 µg/mL e 20 µg/mL.

Por seguinte, preparou-se uma solução metanólica de DPPH com concentração de 0,1 mmol L⁻¹.

Previamente, no espectrofotômetro, foram feitas as leituras das soluções em triplicata, utilizando-se do metanol como branco. Posteriormente, em um frasco âmbar, foi preparada uma solução pela adição de 1 mL de solução de DPPH e 3 mL de metanol, que foi homogeneizado e transferido para uma cubeta de quartzo e obtido um espectro da solução diluída de DPPH no comprimento de onda de 517 nm. Seguidamente, as soluções com diferentes concentrações, foram diluídas com DPPH na proporção de 3 mL de solução de extrato e 1 mL de DPPH, que permaneceram em repouso por 30 minutos em repouso, até a leitura.

Com isso, foram obtidas as seguintes concentrações finais para cada extrato:

a) Acetato de etila: 97,5 µg/mL; 75 µg/mL; 52,5 µg/mL; 30 µg/mL e 7,5 µg/mL

b) Butanol: 33,75 µg/mL; 22,5 µg/mL; 16,88 µg/mL; 11,25 µg/mL e 5,63 µg/mL.

c) Metanol: 75 µg/mL; 60 µg/mL; 45 µg/mL; 30 µg/mL e 15 µg/mL.

3.5. Avaliação da atividade antirradicalar pela supressão da absorbância do DPPH pela Quercetina e Trolox®

Foram preparadas soluções estoque de Quercetina e Trolox® com concentrações de 1,0 mg/mL. Em seguida, foram preparadas soluções por diluição de ambas soluções:

a) Quercetina: 15 µg/mL; 12 µg/mL; 9 µg/mL; 6 µg/mL e 3 µg/mL

b) Trolox: 30 µg/mL; 24 µg/mL; 18 µg/mL; 12 µg/mL; 6 µg/mL

Por seguinte, preparou-se uma solução metanólica de DPPH 0,1 mmol L⁻¹. Previamente, no espectrofotômetro, foram feitas as leituras das soluções em triplicata, utilizando-se do metanol como branco. Posteriormente, em um frasco âmbar, foi preparada uma solução pela adição de 1 mL de solução de DPPH e 3 mL de metanol, que foi homogeneizado e transferido para uma cubeta de quartzo e obtido um espectro da solução diluída de DPPH no comprimento de onda de 517 nm. Seguidamente, as soluções com diferentes concentrações, foram diluídas com DPPH, na proporção de 3 mL de solução de extrato e 1 mL de DPPH, que permaneceram em repouso por 30 minutos em repouso, até a leitura. Com isso, foram obtidas as seguintes concentrações finais:

a) Quercetina: 11,25 µg/mL; 9 µg/mL; 6,75 µg/mL; 4,5 µg/mL e 2,25 µg/mL.

b) Trolox: 22,5 µg/mL; 18 µg/mL; 13,5 µg/mL; 9 µg/mL; 4,5 µg/mL.

4. RESULTADO E DISCUSSÃO

4.1. Avaliação da atividade antirradicalar dos extratos por CCDA com DPPH

A solução do radical DPPH apresenta coloração púrpura, no entanto quando ocorre a reação com uma substância capaz de doar um hidrogênio o DPPH torna-se amarelo. Assim, por esta técnica, foi possível observar que os extratos em butanol e metanol para ambas espécies foram os mais ativos pela presença dos *spots* com coloração amarela mais intensa.

Entre estes extratos, ainda ficou evidente que a espécie *P. makinoi* apresentou os extratos mais ativos (Figuras 4 a 7)

Figura 4: Avaliação da atividade antirradicalar em CCDA dos extratos em hexano.

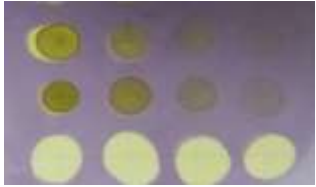
Hexano	Concentração (mg/mL)
ESPÉCIE	10,0 5,0 2,5 1,0
<i>Phyllostachys Makinoi</i>	
<i>Guadua angustifolia</i>	
Quercetina (Controle)	

Figura 5: Avaliação da atividade antirradicalar em CCDA dos extratos em acetato de etila.

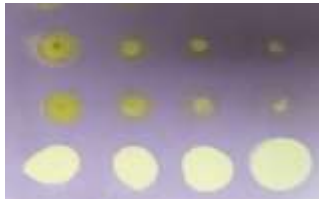
Acetato de Etila	Concentração (mg/mL)
ESPÉCIE	10,0 5,0 2,5 1,0
<i>Phyllostachys Makinoi</i>	
<i>Guadua angustifolia</i>	
Quercetina (Controle)	

Figura 6: Avaliação da atividade antirradicalar em CCDA dos extratos em n-butanol

Butanol	Concentração (mg/mL)
ESPÉCIE	10,0 5,0 2,5 1,0
<i>Phyllostachys Makinoi</i>	
<i>Guadua angustifolia</i>	
Quercetina (Controle)	

Figura 7: Avaliação da atividade antirradicalar em CCDA dos extratos em metanol

Extrato em metanol	Concentração (mg/mL)			
ESPÉCIE	10,0	5,0	2,5	1,0
<i>Phyllostachys Makinoi</i>				
<i>Guadua angustifolia</i>				
Quercetina (Controle)				

4.2. Avaliação da atividade antirradicalar por supressão da absorbância do DPPH

A avaliação a atividade antirradicalar dos extratos apontou para os extratos em metanol e butanol como os mais relevantes, pois foi necessário uma menor concentração de extrato para suprimir a absorbância do DPPH em 517 nm. Tal fato revela que as substâncias de maior polaridade são as responsáveis pela atividade antirradicalar (Figuras de 8 a 15).

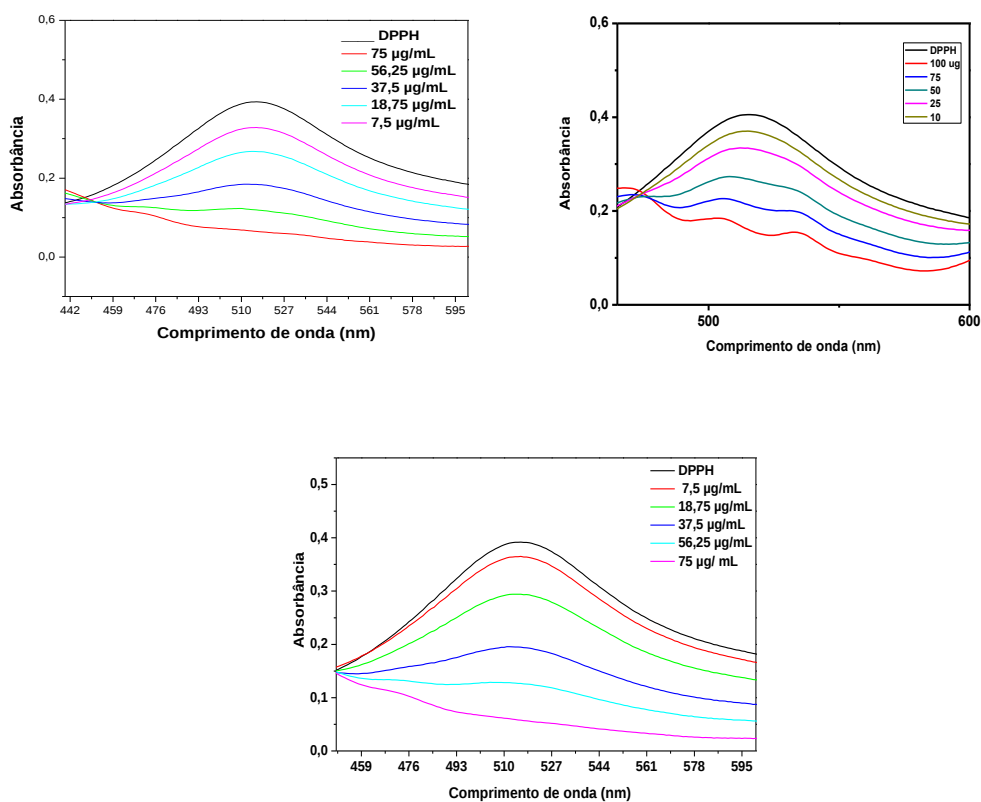
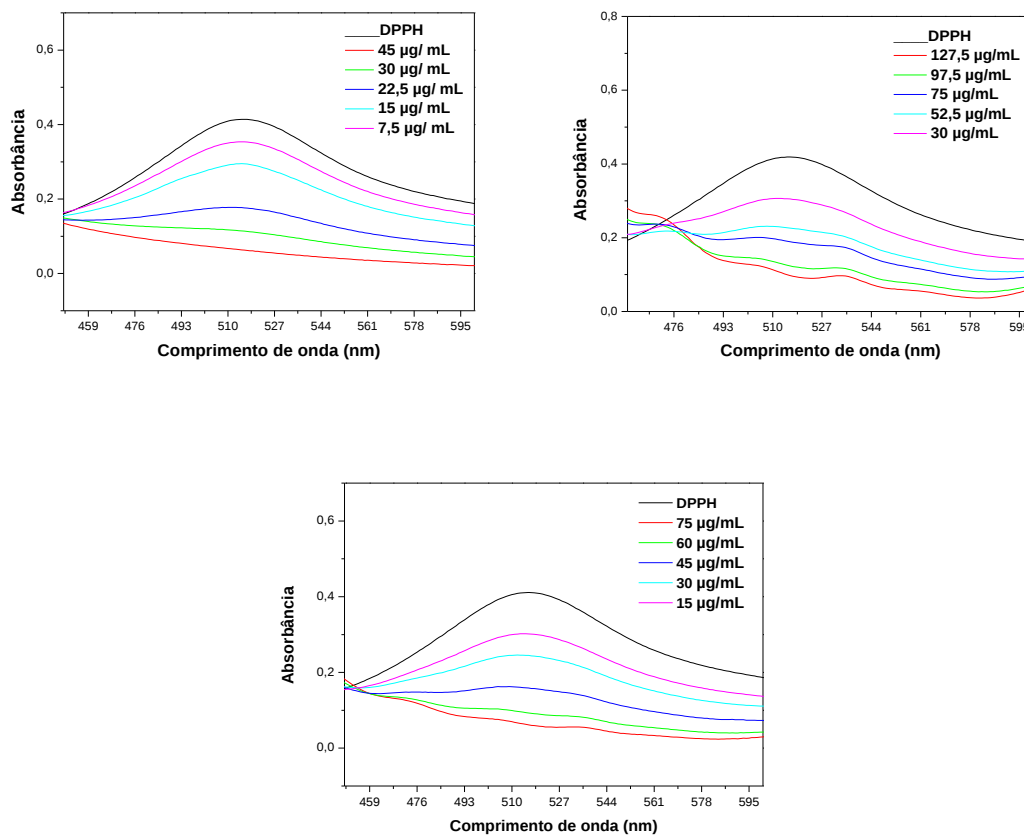
Figura 8: Espectro UV-VIS do radical DPPH pela a supressão absorbância pelos extratos da espécie *G. angustifolia*

Figura 9: Espectro UV-VIS do radical DPPH pela a supressão absorbância pelos extratos da *P. makinoi*

A partir da análise em triplicata para a reação para cada extrato e o radical DPPH as curvas analíticas foram plotadas assim permitindo obter a porcentagem de inibição do radical DPPH.

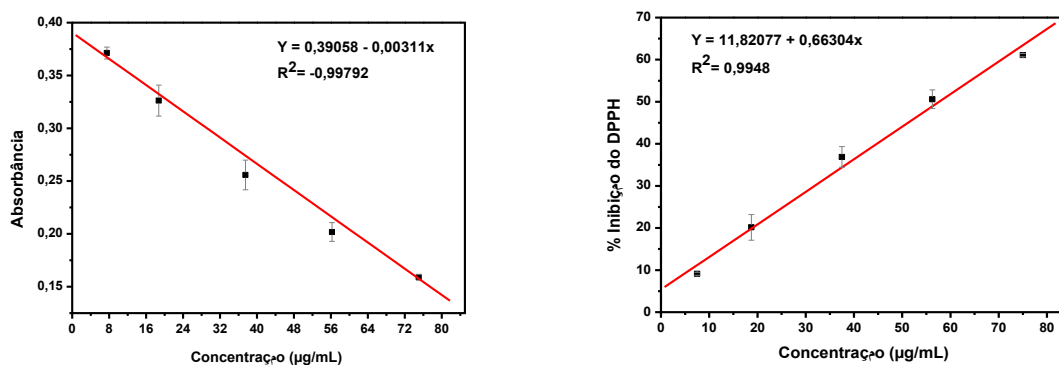
Figura 10: Curva analítica do extrato de acetato de etila frente a supressão do DPPH da espécie *G. angustifolia*

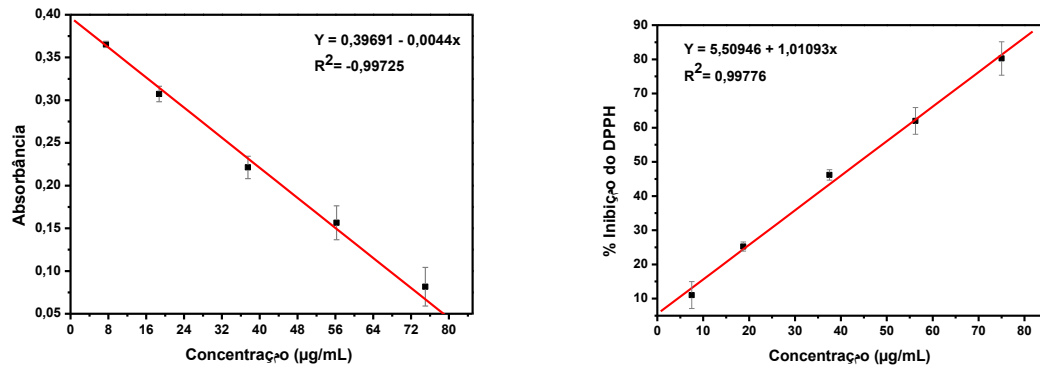
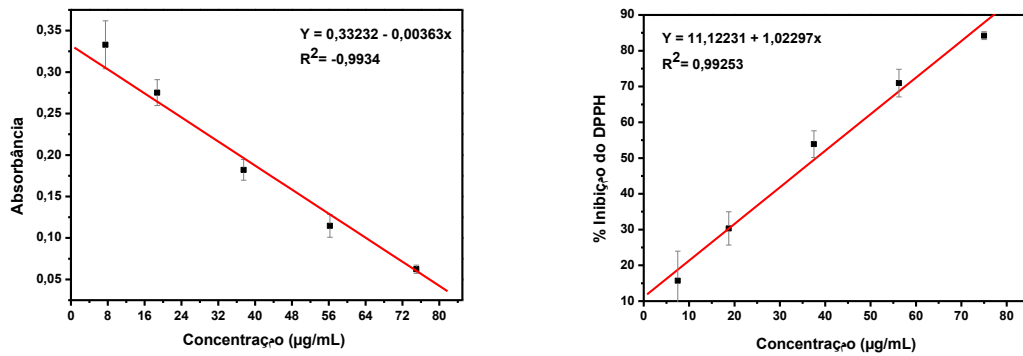
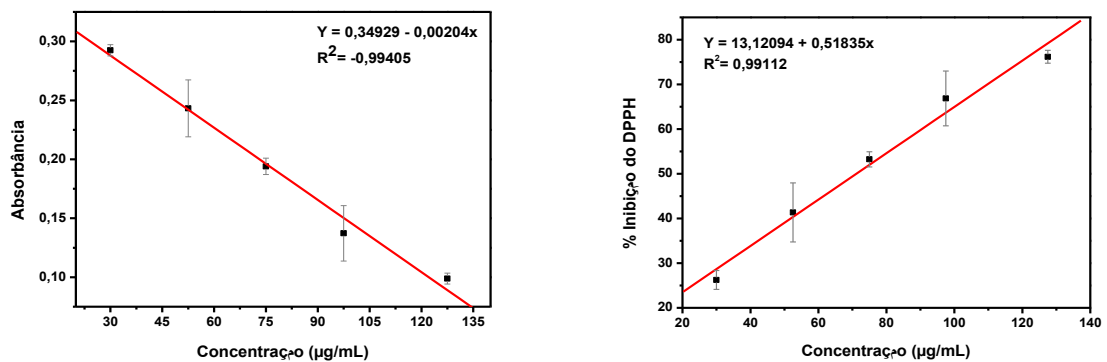
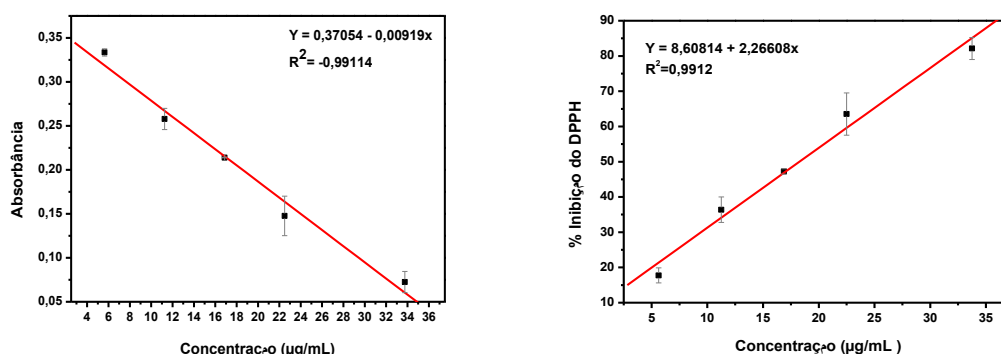
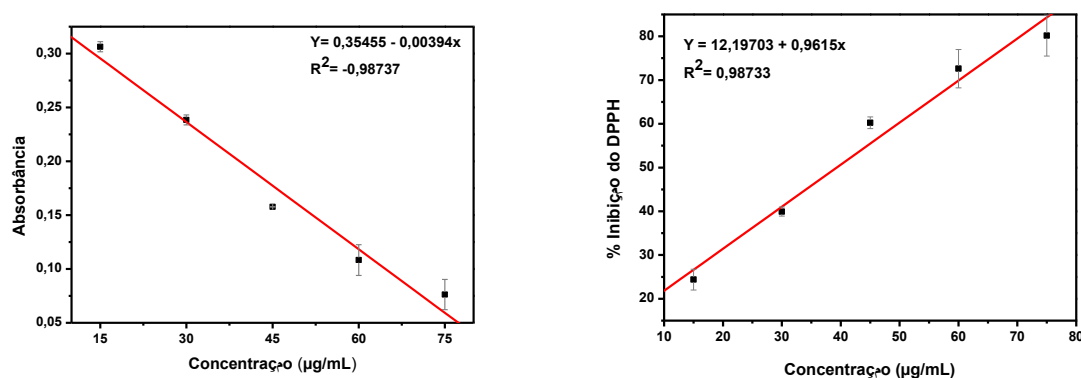
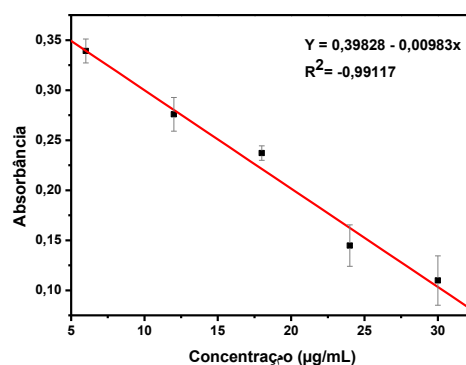
Figura 11: Curva analítica do extrato de butanol frente a supressão do DPPH da espécie *G. angustifolia***Figura 12:** Curva analítica do extrato de metanol frente a supressão de sinal do DPPH da espécie *G. angustifolia***Figura 13:** Curva analítica do extrato de acetato de etila da supressão do DPPH da espécie *P. makinoi*

Figura 14: Curva analítica do extrato de butanol da supressão do DPPH da espécie *P. makinoi***Figura 15:** Curva analítica do extrato de metanol da supressão do DPPH da espécie *P. makinoi*

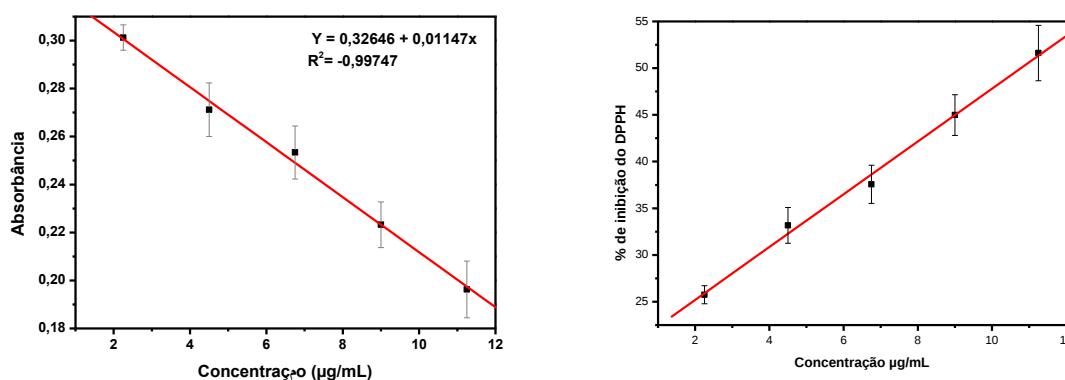
Pela correlação linear, o resultado mais relevante foi do extrato em butanol para a espécie *Phyllostachys makinoi* com valor de IC_{50} de $18,27 \pm 3,78$.

A atividade antirradicalar também foi expressa pelo método da capacidade oxidante em porcentagem de Trolox® (ácido 6-hidróxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico). A partir da obtenção da curva analítica de trolox (Figura 16) e pela relação dos coeficientes angulares do trolox® e dos extratos ficou evidenciado mais uma vez a alta porcentagem para o extrato em butanol de *Phyllostachys makinoi* com valor de 93,49%. (Tabela 1).

Figura 16: Curva analítica do controle Trolox®

Como última análise, os valores de IC_{50} de todos os extratos foram comparados com os valores de IC_{50} da quercetina, $10,78 \pm 0,82$, tabela 1. Diante da comparação, o resultado mais promissor é do extrato em butanol para *P. makinoi* com o valor de IC_{50} de $18,27 \pm 3,78$ indicativo de uma grande atividade antirradicalar. A comparação com a quercetina teve como base o conhecimento de que a quercetina é uma substância com reconhecida potente atividade antirradicalar (Figura 17).

Figura 17: Curva analítica média da triplicata da Quercetina



Todos os resultados estão sumarizados na tabela 1.

Tabela 1: Capacidade antirradicalar dos extratos das espécies *G. angustifolia* e *P. makinoi*

Espécie	Amostra de extrato	IC_{50} (µg/mL)	Trolox (%)
<i>Guadua angustifolia</i>	Acetato de etila	$57,58 \pm 2,51$	32,15
	Butanol	$44,01 \pm 2,14$	42,11
	Metanol	$38,01 \pm 3,98$	37,00
<i>Phyllostachys makinoi</i>	Acetato de etila	$71,15 \pm 3,05$	21,87
	Butanol	$18,27 \pm 3,78$	93,49
	Metanol	$39,32 \pm 4,23$	40,48
Quercetina (Controle)		$10,78 \pm 0,82$	

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante da vasta variedade de espécies de bambus em solo brasileiro e do conhecimento ainda restrito sobre a composição química e atividade biológica destas espécies torna-se muito importante um estudo exploratório sobre a aplicação destas espécies para o bem-estar e desenvolvimento da sociedade.

Os estudos realizados com as frações obtidas dos extratos das folhas de bambus das espécies estudadas neste trabalho, demonstraram interessante potencial antioxidante para os extratos mais polares. Estes extratos apresentam essencialmente em sua composição flavonoides, substâncias com alto poder antirradicalar.

Entre as espécies estudadas, o destaque fica com o extrato em butanol para a espécie *Phyllostachys makinoi* com excelente atividade antirradicalar ($18,27 \pm 3,78 \mu\text{g/mL}$) quando comparado com a quercetina ($10,78 \pm 0,82 \mu\text{g/mL}$).

REFERÊNCIAS

CANAVAN, S., RICHARDSON D. M., VISSER V., LE ROUX J., VORONTSOVA M. S., WILSON J. R. U. The global distribution of bamboos: assessing correlates of introduction and invasion. *AoB PLANTS*, 9: plw078; doi:10.1093/aobpla/plw078, 2017.

CHAOWANA, P. Bamboo: An Alternative Raw Material for Wood and Wood-Based Composites. *Journal of Materials Science Research*, v. 2, p. 90-102, 2013.

HIDALGO-LÓPEZ, O. *Bamboo-The gift of the gods*. 1 ed. Bogotá, p.533, 2003

KOIRALA, N.; HUY THUAN N.; GHIMIRE G. P.; THANG, D. V.; SOHNG J. K. Methylation of flavonoids: Chemical structures, bioactivities, progress and perspectives for biotechnological production. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 86, p. 103-116, 2016.

KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, p. 1-16, 2013.

LAWS, BILL. *50 plantas que mudaram o rumo da história*. 1 ed. Rio de Janeiro: Sextante. p.224, 2013.

NIMSE S. B.; PAL D. Free radicals, natural antioxidantes, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*, v. 5, p. 27986-28006, 2015.

OLIVEIRA, A. C., VALENTIM, I. B., GOULART, M. O. F., SILVA, C. A., BECHARA, E. J. H., TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. *Química nova*, v. 32, n. 3. p. 689-702, 2009.

OLIVEIRA, S.; GLALCI, A. S.; ECKET C. R.; SILVA, T.A.; SOBRAL, E. S.; FÁVERO, O. A.; FERREIRA, M. J. P.; ROMOFF, P.; BAADER, W. J. Evaluation of antiradical assays used in determining the antioxidant capacity of pure compounds and plant extracts. *Química Nova*, v. 3, p. 497-503, 2014.

RENVOIZE, S. From Fishing Pole and Ski Sticks to Vegetables and Paper Bamboo Genus *Phyllostachys*. *Botanical Magazine*, v.12, p. 8-15, 1995.

SANTI, T. O potencial do bambu. *O Papel*, n. 4, p. 23-34, Abr. 2015.

SCHRÖDER, S. Bamboo Genera Guadua, 2010a. Disponível em: <https://www.guaduabamboo.com/genera/guadua>. Acesso em: 30 jul. 2018.

SCHRÖDER, S. Bamboo Genera Guadua, 2010b. Disponível em: <https://www.guaduabamboo.com/genera/bambusa>. Acesso em: 30 jul. 2018.

SOLER-RIVAS, C.; ESPÍN, J. C.; WICHERS, H. J. An Easy and Fast Test to Compare total Free Radical scavenger Capacity of Foodstuffs. *Phytochemical Analysis*, v. 11, p. 330-338, 2000.

TANAKA A.; ZHU Q.; TAN H.; HORIBA H.; OHNUKI K.; MORI. Y.; YAMAGUCHI R.; IWAMOTO A.; KAWAHARA H.; SHIMIZU K. Biological Activities and Phytochemical Profiles of Extracts from Different Parts of Bamboo (*Phyllostachys pubescens*). *Molecules*, v. 1, p. 8238-8260, 2014.

WANG J.; YUE. Y.; TANG F.; SUN J. TLC Screening for Antioxidant Activity of Extracts from Fifteen Bamboo Species and Identification of Antioxidant Flavone Glycosides from Leaves of *Bambusa. textilis* McClure. *Molecules*, v. 17, p. 12297-12311, 2012.

ZHANG Y.; JIAO J., LIU C.; WU X.; ZHANG Y. Isolation and purification of four flavone C-glycosides from antioxidant of bamboo leaves by macroporous resin column chromatography and preparative high-performance liquid chromatography. *Food Chemistry*, v. 107, p. 1326-1336, 2008.

Contatos: luubarrosc@gmail.com (aluno) e edgard.ferreira@mackenzie.br (orientador)