

Isolamento e identificação de compostos com atividade antioxidante e anti tirosinase em extratos de

***Guadua angustifolia* var. bicolor Lodoño**

João Kazlauckas Caetano Corrêa

Paulo Roberto Hrihorowitsch Moreno

Universidade de São Paulo

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

joakazlauckas@usp.br

Objetivos

A espécie vegetal *Guadua angustifolia* var. bicolor Lodoño, é um bambu nativo da América do Sul e não há estudos quanto a sua composição química e biológica na literatura. Desse modo, o principal objetivo deste projeto é analisar sua fitoquímica, bem como, estudar seu potencial antioxidante.

Métodos e Procedimentos

Os colmos de *G. angustifolia* var. bicolor foram coletados no dia 11 de abril de 2017 na Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento (UPD) de Tatuí (SP, Brasil). As folhas foram coletadas no Viveiro do Laboratório de Experimentação com Bambu da Universidade Estadual Paulista, Campus Bauru. O material vegetal recolhido foi então identificado pelo Dr. Tarcísio Filgueiras do Instituto de Botânica de São Paulo (São Paulo, SP, Brasil). Foram preparados dois extratos de *G. angustifolia* var. bicolor, um com as folhas rasuradas e outro com o colmo triturado, ambos pelo método de extração contínua em aparelho de Soxhlet com álcool etílico à 70% como solvente, até a exaustão.¹ Finalizado o processo, o solvente foi eliminado em um evaporador rotatório sob pressão reduzida. Após a evaporação, a umidade residual foi eliminada em um dessecador à vácuo.. O extrato seco foi

fracionado por extração sólido-líquido com uma série de solventes em ordem crescente de polaridade, hexano, diclorometano, acetato de etila e n-butanol. A metodologia usada foi a seguinte: preparando uma suspensão do extrato (6,08 g para folhas e 2,11 g para colmos) em 100 mL do solvente adequado com agitação magnética por 10 minutos, repetindo-se o procedimento quatro vezes para cada solvente. A atividade antioxidante foi determinada pelo método de supressão do radical DPPH.² A inibição da enzima tirosinase utilizou dopamina como substrato e tirosinase fúngica³, para se medir o quanto de melanina é formada através de um teste colorimétrico.^{3,4} A quantificação dos flavonoides totais foi feita por colorimetria com $AlCl_3$.² Em seguida, as frações foram separadas em cromatografia em coluna (CC) e as subfrações obtidas analisadas por cromatografia em camada delgada (CCD). Adicionalmente, as frações foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detector por arranjo de diodos (DAD) em conjunto com uma série de padrões.

Resultados

Após a partição por solventes, as frações obtidas foram analisadas quanto ao seu potencial

antioxidante e teor de flavonoides. As frações diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol apresentaram os melhores resultados nos testes de atividade antioxidante e quantificação de flavonoides, sendo selecionadas para o fracionamento por CC.

Os testes de atividade antioxidante foram realizados com as frações de diclorometano (colmos e folhas), obtendo-se 224,88 µg/mL no cálculo de IC₅₀ para os colmos. O teste com a fração de folhas em diclorometano mostrou atividade antioxidante, porém devido a presença de clorofila a leitura dos dados por absorbância ficou comprometida e não foi possível quantificá-la com precisão. Apenas a fração de folhas em acetato de etila foi testada a atividade antioxidante, pois a massa obtida na fração de colmos foi extremamente inferior (15,5 mg) em relação a fração de folhas (760 mg). No caso das frações butanólicas, a derivada de folhas apresentou um IC₅₀ de 102,95 µg/mL, enquanto que a derivada de colmos apresentou 425,93 µg/mL. As frações de hexano não foram testadas, pois em estudos anteriores essas frações não apresentaram uma atividade relevante.

Adicionalmente, foram realizados ensaios preliminares para determinação da atividade anti-tirosinase de ambas as frações butanólicas. A fração de folhas apresentou 29,4% de inibição, enquanto que a de colmos apresentou 13,2%, ambas à uma concentração de 0,4 mg/mL em uma placa de 96 poços. Posteriormente, serão feitos testes com as demais frações e a determinação do IC₅₀.

As CCD's de algumas dessas subfrações demonstraram a presença de espécies de flavonoides através de reagentes específicos. Nas análises por CLAE frações butanólicas tanto do colmo como das folhas indicaram que estas possivelmente continham ácido *p*-cumárico, catequina, epicatequina, quercetagenina-7-O-glicosídeo e genisteína.

Conclusões

A fração butanólica de folhas e colmos se mostraram as mais promissoras com relação à atividade antioxidante durante os testes preliminares. No entanto, são necessários mais estudos para se identificar os compostos responsáveis por essa atividade.

Referências Bibliográficas

- 1-WRÓBLEWSKA, K. B. ; BABY, A. R. ; GROMBONE-GUARATINI, M. T. ; MORENO, P. R. H. In vitro antioxidant and photoprotective activity of five native Brazilian bamboo species. **Industrial Crops and Products**, v. 130, p. 208-215, 2019.
- 2-DE OLIVEIRA, D. C. S. **Composição química e atividades biológicas de extratos de *Guadua angustifolia* Kunth**, - Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas,, 2019.
- 3-Jung-Hee Hwang & Byung Mu Lee, Inhibitory Effects of Plant Extracts on Tyrosinase, L-DOPA Oxidation, and Melanin Synthesis, **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, 70:5, 393-407, 2007.
- 4-MUKHERJEEA, P. K. *et al.* Validation of medicinal herbs for anti-tyrosinase potential. **Journal of Herbal Medicine**, 2018.