

Detecção *in silico* dos constituintes micromoleculares majoritários presentes nas folhas de *Strychnos brasiliensis* (Loganiaceae) usando EMAR/CLAE-DAD.

Alice Tereza Sampaio de Matos (PG)*¹, Patrícia Mendonça Pauletti (PQ)¹, Dulce Helena Siqueira Silva (PQ)¹, Vanderlan da Silva Bolzani(PQ)¹ e Ian Castro-Gamboa (PQ)¹

¹NuBBE- Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais - Instituto de Química - UNESP, C. P. 355, CEP 14800-900, Araraquara, SP.

alicetsmatos@yahoo.com.br

Palavras Chave: desreplicação, EMAR/CLAE-DAD, detecção micromolecular *in silico*.

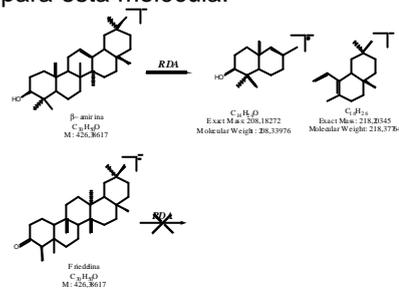
Introdução

O Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais (NuBBE) condensa, dentro das suas atividades de pesquisa, o estudo de micromoléculas bioativas provenientes de plantas do Cerrado e Mata Atlântica Paulistas. Nos últimos anos o NuBBE investe no desenvolvimento de metodologias analíticas de desreplicação, utilizando diversas técnicas acopladas, tais como, CLAE/DEQ/DAD, EMAR/CLAE-DAD e EM/CLAE-DAD, para acelerar a escolha de extratos brutos pertencentes a sua extratoteca. Técnicas analíticas de detecção *in silico* vêm sendo incorporadas às metodologias cromatográficas de construção de perfis micromoleculares, auxiliando na seleção apenas dos metabólitos de interesse presentes em matrizes brutas¹. Os resultados da conjugação dessas técnicas permitem orientar apenas o estudo dos extratos ou das frações que possuam alvos micromoleculares promissores. Neste trabalho será abordado o estudo do extrato das folhas de *Strychnos brasiliensis* (Loganiaceae), gênero reconhecido pelos seus quimiotipos alcaloídicos e flavonoídicos, como modelo para a implementação de uma metodologia *in silico* utilizando o software Bruker Data Analysis (Ver. 3.2) conjugado aos dados de massas de alta resolução de mais de 170.000 moléculas compiladas no dicionário de produtos naturais da Chapman & Hall².

Resultados e Discussão

O extrato bruto das folhas de *S. brasiliensis* (1 mg) foi submetido a análise via EMAR/CLAE-DAD. Durante a análise cromatográfica foi empregado um gradiente linear de 8 minutos utilizando como fase móvel H₂O:MeOH; iniciando com 5% de MeOH, e finalizando com 100% de MeOH a uma razão de fluxo de 3,0 mL/min. A separação foi realizada usando uma coluna monolítica Phenomenex ODS-18. O espectro de contagem dos íons totais (TIC) gerado pelo EMAR (modo negativo) foi analisado, processado e interpretado, gerando a fórmula molecular de alta resolução para cada íon majoritário. Da análise foi possível detectar uma série de alcalóides indólicos

monoterpênicos descritos em outras espécies de *Strychnos*, tais como, brucina, icajinina entre outros³. A detecção de alguns alcalóides quinolínicos, tais como, cusparina, chimanina e, principalmente, quinina, chamou-nos a atenção devido ao fato que *S. brasiliensis* é comumente confundida com *S. pseudoquina*, planta usada no tratamento da malária⁴. A presença de quinina poderia justificar o uso da planta contra essa doença tropical. Os íons extraídos do TIC provenientes das bandas cromatográficas de maior tempo de retenção revelaram a presença de uma série de triterpenos, entre eles, friedelina, β -amirina, β -sitosterol e estigmasterol. Um caso interessante a ser mencionado na série é a massa de alta resolução idêntica para a friedelina e a β -amirina (m/z : 426,38617). Após análise MS-MS foi possível identificar a β -amirina como o triterpeno detectado em *S. brasiliensis*, evidenciado pelo íon m/z : 208,40, originado do rearranjo retro Diels-Alder possível somente para esta molécula.



Conclusões

O uso da técnica EMAR/CLAE-DAD mostrou-se eficiente na detecção *in silico* dos constituintes majoritários micromoleculares presentes no extrato bruto das folhas de *S. brasiliensis*. A técnica de análise foi eficiente, rápida e seletiva, auxiliando no processo de desreplicação da matriz. A detecção de quinina no extrato de *S. brasiliensis* estimula a geração de novas estratégias na análise fitoquímica da espécie, visando à purificação e isolamento dessa micromolécula, o que justificaria o seu uso etnofarmacológico.

Agradecimentos

Sociedade Brasileira de Química (SBQ)

À FAPESP, BIOTA-FAPESP, CAPES e CNPq pelo auxílio à pesquisa e bolsas concedidas.

-
1. Fredenhagen, A, et al. *J. Nat. Prod*, **2005**, 68, 385-391.
 2. <http://www.chemnetbase.com/scripts/dnpweb.exe?welcome-main>.
 3. Philipe, G, et al. *Toxicon*, **2004**, 44, 405-416.
 4. Andrade-Neto, V. F, et al, *J. Etnopahrm*, **2003**, 87, 253-256.