

Caracterização da Azadirachtina A em diversos órgãos do Nim através do uso da técnica de LC-MRM.

* Moacir Rossi Forim¹ (PQ), Vivian Estevam Cornélio¹ (IC), Maria Fátima das G. Fernandes da Silva¹ (PQ), Édson Rodrigues-Filho¹ (PQ), João B. Fernandes¹ (PQ), Paulo C. Vieira¹ (PQ)

¹ Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Química – UFSCar. Rod. Washington Luiz, Km. 235, Caixa Postal – 676, CEP 13560-970, São Carlos, SP.

* moacir@iris.ufscar.br

Palavras Chave: *Azadirachta indica*, caracterização, MRM, limonóides.

Introdução

O Nim (*Azadirachta indica* A. Juss), é uma árvore nativa do sub-continente indiano o qual tem despertado enorme interesse de cientistas de diversas áreas de pesquisas que envolvem princípios bioativos¹. Diferentes partes do Nim têm sido utilizadas principalmente na medicina e na agricultura. Aproximadamente 400 espécies de insetos considerados pragas agrícolas, demonstraram sensíveis a algum tipo de ação do principal composto ativo do Nim, o limonóide azadirachtina A (**01**)².

Entretanto, uma grande discussão ocorre no meio científico sobre a relação atividade extrato vs. teor de azadirachtina A principalmente, sobre as atividades descritas para extratos de folhas.

Numa recente revisão bibliográfica no Gênero *Azadirachta*³, observamos que mais de 200 metabólitos secundários de origem terpênica, foram isolados e caracterizados. Embora alguns autores citarem a presença de **01** por todos os órgãos da planta^{2,4}, muitas vezes justificando a atividade dos extratos, nenhum trabalho descreveu ou demonstrou a caracterização deste nas folhas.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo, caracterizar diversas estruturas da planta e frutos em diferentes graus de maturação verificando se a azadirachtina A encontra-se presente. Estas análises foram realizadas fazendo uso da técnica de Cromatografia Líquida acoplado a um Espectrômetro Massas em seqüência (LC-MS/MS).

Resultados e Discussão

Todos os extratos analisados foram preparados macerando o material vegetal em solvente orgânico. Os extratos foram analisados após determinação dos parâmetros ideais de separação cromatográfica e de análise ajustando os parâmetros do MS/MS. Para a ionização foi usada uma fonte de *electrospray* no modo negativo (ESI) promovendo a ionização e fragmentação na fonte, utilizando para a detecção do íon de **01**, o modo *Multiple Reaction Monitoring* (MRM). Nesse modo, ambos os quadropolos do detector MS/MS permanecem estáticos promovendo um grande ganho em sensibilidade para um analito

conhecido (próximo à 100 vezes). Uma vez que se desejava apenas monitorar a presença ou não da azadirachtina A nos extratos, o primeiro quadropolo do equipamento (MS1) foi mantido estático monitorando a entrada do íon [(M – H)⁺ m/z 719] - íon molecular de **01**. O último quadropolo (MS2) monitorou apenas a passagem ou não dos íons filhos da azadirachtina A gerados na fragmentação do íon molecular garantindo que este, selecionado no primeiro quadropolo, seja realmente do composto de interesse. Foi realizada a análise do padrão puro da azadirachtina A definindo seu perfil de fragmentação, selecionando íons filhos característicos (m/z 719 -> 486 e 719 -> 211), possibilitando que apenas **01** seja monitorada no quadropolo MS2. O resultado das análises das amostras estão ilustradas na Tabela 01.

Tabela 01 – Análises de LC-MS/MS.

Órgão da Planta	Presença 01
Cascas dos galhos	Sim
Cerne dos galhos	Sim
Folhas	Não
Flores	Sim
Fruto infantil	Sim
Amêndoa fruto jovem	Sim
Amêndoa fruto adulto	Sim
Amêndoa fruto adulto/maduro	Sim
Amêndoa semente seca	Sim
Palha semente seca	Sim

Nestas análises, **01** só não foi identificada nas folhas sendo mais um indício de que a biosíntese deste metabólito não ocorra neste órgão.

Conclusões

Com uso da técnica de MRM se obtém um cromatograma altamente específico de boa relação sinal/ruído (sensibilidade). As atividades dos extratos do Nim não devem ser atribuídas apenas a azadirachtina A, mas sim, a um sinergismo de metabólitos secundários.

Agradecimentos

FAPESP, CNPQ e CAPES.

¹ Akhila, A.; Rani, K. *Prog.Chem. Org. Nat. Prod.* 78, 47-149, 1999.

² Martinez, S.S. IAPAR - Londrina: IAPAR, 2002.

³ Forim, M.R. Tese Doutorado – Universidade Federal de São Carlos. São Carlos: UFSCar, 2006. 320 p.

⁴ Champagne, D.E; *et al.*. *Phytochemistry*, 31, 1992, 377-394.