

Aplicação da técnica CLAE-DAD-EM/EM na identificação de flavonóides de *Tibouchina candolleana* (Melastomataceae)

Fernanda Moraes dos Santos (IC), Antônio E. Miller Crotti (PQ), Wilson R. Cunha (PQ)*

Núcleo de Pesquisas em Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade de Franca. *E-mail: wrcunha@unifran.br

Palavras Chave: *Tibouchina candolleana*, Melastomataceae, flavonóides, CLAE-EM.

Introdução

Flavonóides são compostos fenólicos de grande importância no reino vegetal, cujas propriedades antioxidantes são bem conhecidas. Devido à ocorrência difundida destes compostos entre as plantas superiores, existe um número considerável de flavonóides descritos na literatura, de modo que os estudos fitoquímicos podem eventualmente levar a estruturas já conhecidas. Neste sentido, o objetivo deste trabalho é utilizar o potencial da cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos, acoplada à espectrometria de massas *tandem* (CLAE-DAD-EM/EM) para delinear um perfil preliminar do extrato etanólico de *Tibouchina candolleana* (Melastomataceae) quanto à flavonas, flavanonas, flavonóis e flavanonóis.

Resultados e Discussão

As análises foram realizadas em equipamento UltrTOF-q (Bruker, USA), equipado com fonte de ionização por *electrospray* (ESI). Para as análises por CLAE-EM, a amostra foi dissolvida em MeCN:H₂O 9:1 e cromatografada em coluna de fase reversa ODS Shimadzu, de dimensões 4,6 x 250 mm empregando-se eluição por gradiente, conforme mostrado na Tabela 1.

Tabela 1. Composição da fase móvel utilizada nas análises por CLAE-EM e CLAE-EM/EM.

Tempo (min)	Composição da fase móvel
0,01	MeCN:H ₂ O 5:95
0,01 a 40	de MeCN:H ₂ O 5:95 a MeCN 100%
40 a 45	MeCN
45 a 50	de MeCN a MeCN:H ₂ O 5:95

Os cromatogramas foram obtidos por detector de arranjo de diodos (DAD) operando em 254, 280 e 320 nm. Estes comprimentos de onda foram selecionados em virtude do fato que a absorvância de flavonóides é máxima nas regiões de 304-350 nm (banda I, anel A) e de 240-280 nm (banda II, anel B).

Foram selecionados os picos dos cromatogramas cujos espectros de absorção no UV apresentaram $\lambda_{\text{máx}}$ nas regiões das bandas A e B. Os íons referentes aos compostos eluídos em cada um dos picos selecionados foram ativados por colisão com N₂, empregando-se energias de colisão de 15 eV.

Os dados dos espectros de EM/EM assim obtidos foram comparados com os dados da literatura.^{1,2}

Com base nos íons ^{1,3}A e ^{2,3}B, bem como em outros processos de fragmentação diagnósticos, foram propostas as estruturas apresentadas na Figura 1.

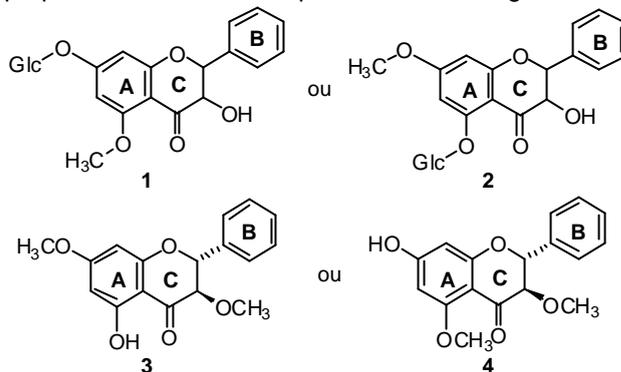


Figura 1. Possíveis estruturas dos flavonóides de *m/z* 301 e de *m/z* 449.

Estes dados mostram que é possível determinar a natureza dos substituintes presentes nos anéis A, B e C, porém a posição relativa destes substituintes não pode ser identificada. Este fato demonstra que a metodologia empregada é adequada apenas para elucidação estrutural parcial de flavonóides.

Conclusões

Os resultados deste estudo demonstram que o emprego da técnica CLAE-DAD-EM/EM pode ser de grande utilidade para a identificação de flavonóides pouco substituídos. Entretanto, na maioria dos casos investigados neste trabalho, os dados fornecidos pela técnica são insuficientes a identificação inequívoca desta classe de metabólitos.

Agradecimentos

Ao prof. Dr. Norberto Peporine Lopes (FCFRP/USP), pela concessão do equipamento para a realização dos experimentos e à FAPESP pelo auxílio financeiro (Bolsa de IC - F. M dos Santos e Proj. de Auxílio à Pesquisa - W. R. Cunha.)

¹ Cuyckens, F.; Claeys, M. *J. Mass Spectrom.* **2004**, *39*, 1.

² Hughes, R. J.; Croley, T. R.; Metcalfe, C. D.; March, R. E. *Int. J. Mass Spectrom.* **2001**, *210/211*, 371.