

Utilização da técnica CLAE-DAD/EMAR na detecção dos constituintes micromoleculares majoritários de *Ocotea paranapiacabensis* (Lauraceae) e avaliação da atividade antioxidante dos extratos brutos.

Marcos M.F. Queiroz (PG)*¹, Ian Castro-Gamboa (PQ)¹ Dulce H.S. Silva (PQ)¹ e Vanderlan da S. Bolzani (PQ)¹.

¹NuBBE- Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais - Instituto de Química-UNESP, C.P 355 CEP-14.800-900, Araraquara, SP

m_marcal@iq.unesp.br

Palavras Chave: *Ocotea*, HPLC-DAD/ESI-HRMS, desreplicação, antioxidante.

Introdução

A família Lauraceae é constituída por cerca de 50 gêneros e aproximadamente 2500 espécies que se apresentam distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do planeta¹ (JUDD et al., 1999). No Brasil ocorrem 19 gêneros dentre os quais, encontra-se os gêneros *Aniba*, *Ocotea*, *Licaria* e *Nectandra*. Recentemente a técnica de CLAE-DAD/EMAR vem sendo utilizada no nosso grupo como uma ferramenta interessante na detecção de metabólitos secundários. Essa metodologia, auxiliada pelas técnicas de identificação *in silico*, e bases de dados do Dictionary of Natural Products (DNP)², são ferramentas valiosas na identificação do perfil químico em extratos brutos. Esta metodologia vem sendo muito útil nos processos de desreplicação evitando o re-isolamento de substâncias já conhecidas.

Resultados e Discussão

Os extratos brutos etanólicos das folhas e galhos de *Ocotea paranapiacabensis* foram submetidos a extração líquido-líquido com solventes de polaridade crescente (hexano, acetato de etila e butanol). Os extratos resultantes foram analisados por CLAE-DAD empregando-se um gradiente assimétrico de 25 minutos, utilizando como fase móvel H₂O:ACN; iniciando com 3% de ACN (7 min.), 20% ACN (13 min.), e finalizando com 100% de ACN (5 min.) a uma razão de fluxo de 3,0 mL/min. A análise foi realizada usando uma coluna monolítica Phenomenex ODS. Os extratos foram submetidos a técnica hifenada CLAE-EMAR e o espectro de TIC (*total ion current*), gerado de cada extrato, foi analisado. Após comparação dos valores das massas detectadas com aquelas presentes na base de dados do DNP, foi possível identificar a presença de alguns metabólitos secundários característicos do gênero *Ocotea* tais como os alcalóides aporfínicos: dicentrinona, dicetrina e ococriptina, entre outros.

Com o objetivo de avaliar a atividade antioxidante do extrato bruto das folhas de *O. paranapiacabensis*, foi gerado um perfil de bioatividade fazendo uso de um coletor automático programado para placas de 96 poços. Uma vez obtida a placa, esta foi submetida aos protocolos já estabelecidos pelo NuBBE para o bioensaio com DPPH e leitora de ELISA. Como resultado desta análise foi possível determinar que a atividade antioxidante está concentrada em três grandes faixas: 2-4; 5-6,5 e 8-10,5 minutos (figura 1).

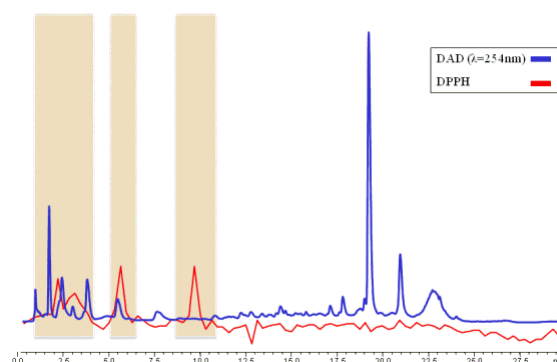


Figura1: Perfil de bioatividade antioxidante do extrato bruto de *O. paranapiacabensis*.

Conclusões

A técnica CLAE-DAD/EMAR foi rápida e eficiente para detectar os alcalóides aporfínicos nos extratos brutos de *O. paranapiacabensis*. Além disso, o perfil de bioatividade antioxidante revelou que os constituintes polares do extrato bruto de *O. paranapiacabensis* possuem atividade promissora. Para a confirmação dos metabólitos de interesse assim como da atividade evidenciada será necessário o isolamento dos constituintes e uso de outras técnicas espectroscópicas como RMN.

Agradecimentos

A CAPEs pela bolsa concedida e ao programa BIOTA-FAPESP.

¹ Judd, W. S.; Campbell, C. S.; Kellogg, E. A.; Stevens, P. F. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. USA: sinauer associates, **1999**.

² <http://www.chemnetbase.com/>