

Utilização da técnica CLAE/UV-DAD-IES-EM na detecção e caracterização de substâncias bioativas em *Ocotea paranapiacabensis* (Lauraceae) e avaliação da atividade antioxidante dos extratos brutos.

Marcos M.F. Queiroz (PG)*¹, Marília Valli (PG)¹, Aline Coqueiro (PG)¹, Ian Castro-Gamboa (PQ)¹, Dulce H.S. Silva (PQ)¹, Maria Cláudia M. Young (PQ)², Luce Maria Brandão Torres (PQ)², e Vanderlan da S. Bolzani (PQ)¹.

¹NuBBE- Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais - Instituto de Química-UNESP, Araraquara-SP.

²Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, Instituto de Botânica, São Paulo-SP.

m_marc@iq.unesp.br

Palavras Chave: *Ocotea*, CLAE /DAD-IES-EM, antioxidante, *in silico*.

Introdução

A família Lauraceae é constituída por cerca de 50 gêneros e aproximadamente 2500 espécies distribuídas através das regiões tropicais e subtropicais do planeta. No Brasil, ocorrem 22 gêneros, frequentemente encontrados em florestas pluviais, restingas e áreas de cerrado. Recentemente a técnica de CLAE/UV-DAD-IES-EM vem sendo utilizada em nosso grupo como uma ferramenta na detecção de metabólitos secundários. Essa metodologia, auxiliada pela técnica de identificação *in silico* e a base de dados do *Dictionary of Natural Products* (DNP)², são ferramentas valiosas na identificação de constituintes químicos presentes em extratos brutos.

Resultados e Discussão

O extrato hidroalcoólico das folhas de *O. paranapiacabensis* foi submetido à extração líquido-líquido com solventes de polaridade crescente (hexano, acetato de etila e *n*-butanol). Os extratos resultantes foram analisados por CLAE-DAD empregando-se um gradiente de 25 minutos, e fase móvel MeOH:HCOOH (0,1%); iniciando com 3% de MeOH (7 min.), 20% MeOH (13 min.), e finalizando com 100% de MeOH (5 min.) a uma razão de fluxo de 3,0 mL/min, utilizando uma coluna monolítica Phenomenex ODS. Os extratos foram submetidos à técnica hifenada CLAE/UV-DAD-IES-EM 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 alcalóides aporfínicos isoméricos. Prossequindo a análise completa dessa fração, foi possível identificar dois flavonóides tipo kaenferol-*O*-glicosilados ainda não relatados no gênero *Ocotea*.

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 DPPH³ num leitor de microplacas. Como resultado desta análise, a atividade antioxidante foi detectada em cinco faixas: 2-4, 5-6, 8-10, 18-20 e 21-22 minutos. Após análise *in silico*, a atividade antioxidante foi atribuída aos constituintes kaenferol-3-*O*-glicosídeo e kaenferol-3-*O*-ramnosídeo, respectivamente. (Figura 1).

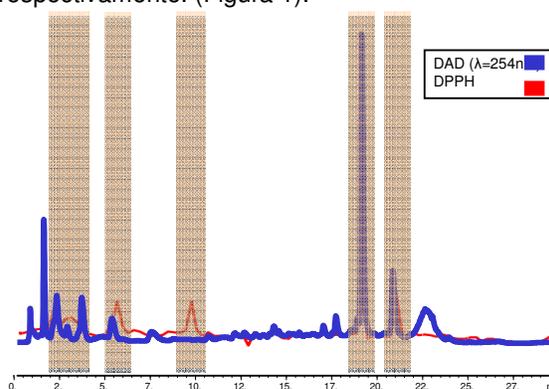


Figura 1: Perfil de bioatividade antioxidante do extrato hidroalcoólico de *O. paranapiacabensis*

Conclusões

A técnica CLAE/UV-DAD-IES-EM mostrou-se eficiente na detecção dos alcalóides aporfínicos presentes nos extratos brutos de *O. paranapiacabensis* além disso, a abordagem *in silico* associada ao monitoramento de atividade antioxidante revelou que os constituintes químicos kaenferol-3-*O*-glicosídeo e kaenferol-3-*O*-ramnosídeo, são os responsáveis pela atividade antioxidante nas faixas de tempo de 18-20; 21-22 min.

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>

³ FERNANDES, D. C. et al. 2008. Chem. Pharm. Bull. 56, 723-726.