

# Método de pré-concentração empregado na determinação do grau de polimerização de proantocianidinas presentes em folhas de espécies de *Byrsonima* por MALDI-TOF-MS

Clenilson M. Rodrigues (PQ)<sup>1</sup>, Daniela Elleto (PG)<sup>2,3</sup>, Viviane C. da Silva (PQ)<sup>1</sup>, Leonardo P. de Souza\* (PG)<sup>1</sup>, Virginia Carbone (PQ)<sup>3</sup>, Wagner Vilegas (PQ)<sup>1</sup>. e-mail: leonardo.prz@gmail.com

1) Departamento de Química Orgânica, IQ - UNESP, C.P. 355, CEP 14800-900 - Araraquara - SP, Brasil. 2) *Università degli Studi di Salerno, Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, via Ponte Don Melillo, 84084 Fisciano (SA) - Italy.* 3) *Proteomic and Biomolecular Mass Spectrometry Center, Institute of Food Science, CNR, Via Roma, 52 a/c, 83100, Avellino, Italy.*

Palavras Chave: Proantocianidinas, *Byrsonima*, MALDI-TOF-MS.

## Introdução

Proantocianidinas (PCs) compreendem uma classe de substâncias fenólicas de ampla ocorrência em espécies vegetais. Elas incluem desde moléculas simples até estruturas poliméricas de ampla faixa molecular. São de grande interesse farmacêutico devido as suas propriedades farmacológicas. Essas propriedades estão diretamente relacionadas às estruturas e com o grau de polimerização (DP) das PCs, o que reforça o interesse em caracterizá-las. Os métodos tradicionais de caracterização de PCs envolvem diversas etapas e muitas vezes processos ácido-catalizados (tioacidólise), complexos e demorados. Este trabalho propõe uma metodologia baseada na pré-concentração de PCs a partir dos extratos das folhas de espécies de *Byrsonima*, seguido da determinação do DP de PCs por MALDI-TOF-MS.

## Resultados e Discussão

Espectros de massas dos extratos orgânicos de *Byrsonimae* foram obtidos por MALDI-TOF-MS, Micro MX (Waters®). Ácido diidroxibenzóico (DHB) foi empregado como matriz nas análises de MALDI.

Modos reflectron e linear foram usados na aquisição dos espectros de massas. Solução contendo mistura de substâncias naturais e outra com fragmento enolase A3 foram empregadas na calibração das faixas de  $m/z$  200-1000 e 1000-5000.

A pré-concentração das PCs foi realizada empregando Sephadex LH-20 (pipetas de Pasteur (6 cm x 0,7 cm, d.i.)) como suporte adsorvente.<sup>1</sup> Interferentes de baixo peso molecular foram eliminados com a FM: MeOH:H<sub>2</sub>O (1:1), considerado como o primeiro eluato (10 mL). PCs de alto peso molecular permanecem retidas na FE e foram desorvidas pela passagem da FM: Acetona:H<sub>2</sub>O (7:3)<sup>2</sup> (10 mL), e considerado como o segundo eluato. Foram aplicados 5 mg do extrato metanólico de cada amostra de *Byrsonima* solubilizados em 500  $\mu$ L de MeOH:H<sub>2</sub>O (1:1). Após secagem do solvente,

o segundo eluato foi aplicado na microplaca do MALDI, em mistura com a matriz DHB, e em seguida à cristalização da amostra, foi realizada a leitura.

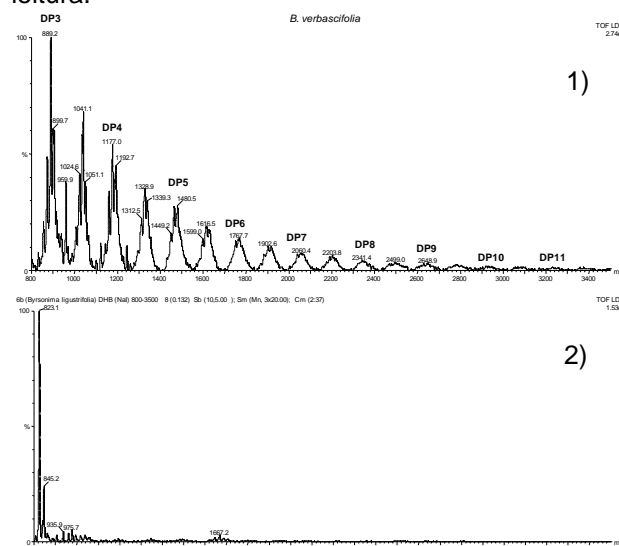


Figura 1. Espectros de MALDI-TOF, em modo positivo, do eluato Acetona:H<sub>2</sub>O do extrato metanólico das folhas de 1) *B. verbascifolia* e 2) *B. ligustrifolia* com a matriz DHB e obtido em modo linear.

## Conclusões

A estratégia de pré-concentração de PCs, usando suporte Sephadex LH-20, resultou na eliminação de micromoléculas que são interferentes na análise. Os resultados encontrados comprovaram a ausência desta classe de substâncias em *B. fagifolia* e *B. ligustrifolia*, sendo que *B. verbascifolia* foi a espécie que apresentou o maior grau de polimerização (DP > 11) dentre as 7 espécies investigadas.

## Agradecimentos

Biota/FAPESP

<sup>1</sup> Beninger, CW; Hosfield, GL. *J Agric Food Chem.* **2003**, *51*, 7879.

<sup>2</sup> Neto, CC; et al., *J. Sci. Food Agric.* **2006**, *86*, 18.