

## Caracterização fitoquímica de duas espécies de *Phyllanthus* (Quebra-Pedra) por Cromatografia líquida hifenada a espectrometria de massa de múltiplos estágios.

Ricardo F. Sprenger<sup>\*1</sup> (PG), João Batista Fernandes<sup>1</sup> (PQ), Quezia B. Cass<sup>1</sup> (PQ)

<sup>1</sup> Laboratório de Síntese Orgânica e Clae – Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ) - UFSCar

\*ricardosprenger@ibest.com.br

Palavras Chave: *Phyllanthus amarus*, *Phyllanthus niruri*, cromatografia líquida, espectrometria de massa

### Introdução

O controle de qualidade de produtos fitoterápicos muitas vezes apresenta métodos farmacopêicos não específicos de caracterização em face da complexidade destes. Nesse sentido, análises por LC-MS representam uma importante ferramenta, pois aliam a capacidade de separação cromatográfica à sensibilidade e os dados estruturais obtidos pelo espectrômetro de massa<sup>1</sup>.

O objetivo do atual trabalho foi a realização de análises por LC-MS/MS com a finalidade de se identificar marcadores químicos presentes nas espécies de *Phyllanthus niruri* e *Phyllanthus amarus* capazes de diferenciá-las quimicamente.

### Resultados e Discussão

Os extratos aquosos foram preparados a partir de espécies cultivadas no campus da UFSCar, sendo posteriormente liofilizados<sup>2</sup>.

Os extratos liofilizados foram solubilizados em água (1mg/mL) e analisados no modo reverso de eluição de acordo com o gradiente ilustrado na Figura 1.

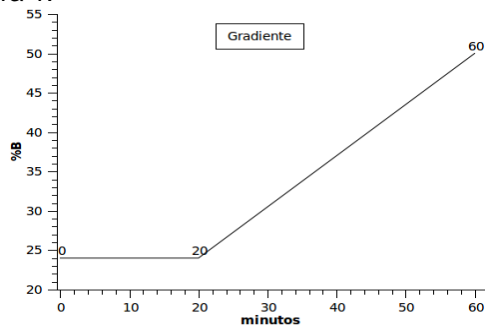


Figura 1. Condições de eluição gradiente para análise dos extratos aquosos. Condições cromatográficas - fase estacionária: sílica derivada fenil-hexil phenomenex<sup>®</sup>; fase móvel: ácido fórmico 0,1% (A), metanol (B); vazão: 1mL/min; volume de injeção 50µL.

Os cromatogramas e os espectros de massa, obtidos no modo negativo, possibilitaram a identificação de compostos próprios de cada espécie e comuns a ambas.

Dentre os compostos comuns às espécies destacam-se: Corilagina, m/z 633 (M-H), 463 (M-galato), 301 (ácido elágico) e 275 (rearranjo DHHP); Ácido carboxílico de brevifolina, m/z 583 (2M-H), 291 (M-H), 247 (M-CO<sub>2</sub>); Vitexina-2-O-ramanosídeo,

m/z 577 (M-H), 457 (quebra do anel de hexose entre a posição 1-6 C-O e 2-3 C-C), 413 (M-ramanose), 293 (quebra da hexose e perda da ramanose).

Outros dois compostos presentes em ambas as espécies não foram identificados. As razões m/z 935 e 925 podem ser inferidas, respectivamente, aos taninos hidrolisáveis galoil-bis-hexahidroxidifenoil-glucose e Phyllanthusiina C.

A espécie *P. niruri* apresentou os seguintes compostos: Miricetrina, m/z 463 (M-H), 317 (mircetrina) e Quercetina-3-O-ramanosídeo, m/z 447 (M-H), 301 (quercetina), presentes em *P. amarus* em menor intensidade.

Por outro lado, a espécie *P. amarus* apresentou os compostos: Rutina, m/z 609 (M-H), 463 (M-ramanosídeo), 301 (aglicona); Quercetrina, m/z 463 (M-H), 301 (aglicona) – presente em menor intensidade em *P. niruri* – e Quercetina 3-O-glucoronídeo, m/z 477 (M-H), 301 (aglicona), determinado estruturalmente por técnicas uni e bidimensionais de RMN.

Outras relações de massa carga foram observadas. No entanto não foi possível determiná-las estruturalmente, baseando-se exclusivamente nas fragmentações obtidas, sendo necessárias análises adicionais por LC-MS/MS ou isolamento e posterior identificação por análises espectroscópicas.

### Conclusões

A capacidade de aliar as técnicas de separação às de identificação estrutural têm propiciado a caracterização de pequenas moléculas em matrizes complexas com a vantagem de economia de tempo em comparação às técnicas usuais utilizadas em pesquisas fitoquímicas.

### Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq pelo auxílio financeiro e ao Dr. Carlos Block Jr (Embrapa – CENARGEN) pelo auxílio técnico prestado.

<sup>1</sup> Hostettman, K.; Queiroz, E. F. e Vieira, P. C. Princípios ativos de plantas. São Carlos/SP: EdUFSCar; 2003. 152p.

<sup>2</sup> Martins, L. R. R. Perfil Cromatográfico e Análise Multivariada para o Controle de Qualidade de Amostras Comerciais do gênero *Phyllanthus* (quebra-pedra). São Carlos, UFSCar, 2003. Tese de Doutorado, 154 p.