

Desreplicação de espécies de Chrysobalanaceae através de HPLC-DAD-ESI-QToF-MS/MS.

Fausto Carnevale Neto*(PG), Alan Cesar Pilon(PG), Rafael Teixeira Freira(PG), Vanderlan da Silva Bolzani(PQ), Ian Castro-Gamboa(PQ).

fausto_pos@yahoo.com

Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais– NuBBE – UNESP - Instituto de Química - Departamento de Química Orgânica, Rua Francisco Degni 55 - 14800-900, Araraquara, São Paulo.

Palavras Chave: Chrysobalanaceae, técnicas hifenadas, desreplicação, flavonóides-O-glicosilados.

Introdução

Desreplicação é o processo analítico de detecção de compostos conhecidos, através do uso de técnicas cromatográficas e espectroscópicas, de maneira a se evitar o re-isolamento e a elucidação de substâncias que não sejam inéditas.¹

O presente trabalho tem como objetivo detectar metabólitos secundários de alta polaridade a partir dos extratos de seis espécies de Chrysobalanaceae através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) acoplada a detector de arranjo de diodos (DAD) e espectrômetro de massas de alta resolução com ionização por *electrospray*, analisador do tipo quadrupolo e tempo-de-vôo em sequência (ESI-QToF-MS/MS).

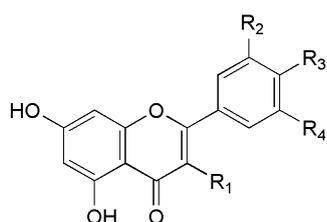
Resultados e Discussão

Extratos EtOH:H₂O (7:3, v/v), depositados na nossa extratoteca, foram submetidos ao processo de remoção de interferentes apolares por extração de fase sólida (SPE) utilizando cartuchos de C₁₈. Cerca de 20,0 mg de cada extrato foram dissolvidos em 1,0 mL da mistura MeOH/H₂O (8:2, v/v), eluídos com 5,0 mL de MeOH/H₂O (8:2, v/v) e posteriormente secos em ar comprimido.

Alíquotas de 20,0 µL das amostras, na concentração de 15,0 mg mL⁻¹, foram injetadas no sistema cromatográfico utilizando-se fase móvel MeOH /HAc (0,1%, v/v) e H₂O/HAc (0,1%, v/v) na vazão de 3,0 mL.min⁻¹, em coluna monolítica Onyx® C₁₈, (100 X 4.6 mm) e pré-coluna: Onyx® C₁₈, em método de gradiente exploratório: 5-100%B, 0-30min; 100%B, 30-35min.

A análise por HPLC-DAD-ESI-QToF-MS/MS foi realizada através da detecção contínua (*on-flow*) das relações massa/carga (*m/z*) de alta resolução e pela técnica de colisão induzida MS/MS para fragmentação dos íons moleculares. O detector UV-DAD foi configurado entre 200-800 nm.

A desreplicação resultou na detecção *in situ* de 18 flavonoides-O-glicosilados, previamente descritos para Chrysobalanaceae (Fig. 1)



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
1	O-hex	OH	OH	OH
2	O-deoxihex	OH	OH	OH
3	O-pen	OH	OH	OH
4	O-hex	OH	OCH ₃	OH
5	O-deoxihex	OH	OCH ₃	OH
6	O-deoxihex-deoxihex	OH	OCH ₃	OH
7	O-hex	OH	OH	H
8	O-pen	OH	OH	H
9	O-deoxihex	OH	OH	H
10	O-pen-pen	OH	OH	H
11	OH	OH	OH	H
12	O-hex	OH	OCH ₃	H
13	O-pen-pen	OH	OCH ₃	H
14	O-hex	H	H	H
15	O-pen	H	H	H
16	O-deoxihex	H	H	H
17	O-pen-pen	H	H	H
18	O-cum-hex	H	H	H

Figura 1. Flavonoides-O-glicosilados detectados por HPLC-DAD-MS/MS.

Conclusões

A metodologia de desreplicação utilizando HPLC-DAD-MS/MS permitiu a rápida detecção de 18 flavonoides-O-glicosilados já relatados em Chrysobalanaceae e justificados por propostas mecanísticas de fragmentação características à flavonoides como a eliminação de H₂O, CO e CH₃, e clivagens no anel C como Retro-Diels-Alder (RDA).²

Agradecimentos

À FAPESP, BIOTA-FAPESP, CAPES e CNPq pelo auxílio à pesquisa e bolsa concedida.

¹ Castro-Gamboa, I.; Burgos, R.; Cardoso, P.; Carnevale Neto, F.; Pilon, A.; Silva, D.; Bolzani, V. *Planta Medica*, **2010**, *76*, 127-128.

² Justino, G. C.; Borges, C. M.; Florêncio, M. H. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2009**, *23*, 237-248.