

## Screening for New Inhibitors of Photosynthesis from *Bauhinia rufa*

Viviane M. Veneza<sup>1</sup>(PG), Jhuly W. F. Lacerda<sup>2</sup> (IC), Olívia M. Sampaio<sup>2</sup> (PQ) e Thiago A. M. Veiga<sup>1\*</sup>(PQ).

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Paulo, Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas, Diadema – SP;

<sup>2</sup>Universidade Federal do Mato Grosso, Departamento de Química, Cuiabá – MT

\*[tveiga@unifesp.br](mailto:tveiga@unifesp.br)

Palavras Chave: *Bauhinia rufa*, Fluorescência, JIP-test, Produtos Naturais, Fotossíntese.

### Abstract

Crude fractions from *Bauhinia rufa* were evaluated by chlorophyll *a* fluorescence for screening of photosynthesis's inhibitors. We detected that most fractions have compounds with the same mechanism of action of the herbicide DCMU.

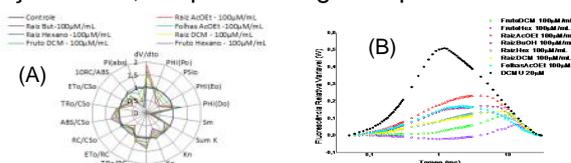
### Introdução

A avaliação do potencial de inibição da fotossíntese por produtos naturais pode ser realizada através de diversas metodologias<sup>1</sup>. Dentre elas, a fluorescência da Clorofila *a* (ChL *a*) oferece o estudo detalhado do aparato fotossintético. A emissão da fluorescência se manifesta como uma curva característica em diferentes fases, chamada OJIP<sup>2</sup>. Dependendo do sítio de interferência do inibidor, a curva de indução da fluorescência sofrerá variações, através da inativação do lado doador e/ou receptor de elétrons do fotossistema II (PSII). Em função da sensibilidade, versatilidade e rapidez da técnica, diversos produtos naturais já foram avaliados através desta técnica<sup>3,4</sup>. Baseados neste contexto, frações do extrato etanólico de *Bauhinia rufa* (Fabaceae) foram submetidas a ensaios *semi-vivo* de fluorescência da ChL *a* para descoberta de novos pró-herbicidas. O isolamento dos compostos presentes nas frações ativas está sendo realizado por meio de análises multivariadas: derreplicação em UHPLC-HRMS e triagens via *molecular networking*<sup>5</sup>. Assim, acredita-se que seja possível obter compostos potencialmente ainda ocultos.

### Resultados e Discussão

Para verificação da emissão de fluorescência da ChL *a*, discos (1 cm<sup>2</sup>) de folhas de espinafre (*Spinacea oleracea* L.)<sup>1</sup> foram infiltrados com soluções (100 µg/mL) das frações brutas em diclorometano, acetato de etila e butanol das folhas, frutos e raízes de *B. rufa*, sempre em comparação com o herbicida comercial DCMU (20 µM). A análise dos parâmetros quânticos extraídos a partir da curva OJIP foi feita através do *software* Biolyzer. Esses dados sugeriram os sítios de ação das amostras. O gráfico de radar (figura 1A) indica que o índice de desempenho fotossintético (PI(abs)) sofreu redução entre 20 e 80%, dependendo da fração testada. Este parâmetro relaciona-se à eficiência de absorção, captura e transferência de energia de excitação no PSII.

A análise de  $dV/dt_0$  indica a variação da fluorescência do início ao fim do experimento. Quando simultaneamente observamos a diminuição de PI(abs) e o aumento de  $dV/dt_0$  (figura 1A), atribui-se isso ao efeito provocado no índice de desempenho em função da variação da fluorescência. O perfil desses parâmetros aliados ao comportamento de outros (PHI/E0, ET0/CS0, ABS/CS0 e 10RC/ABS) indicaram que o transporte de elétrons no PSII está sendo afetado de maneira significativa. Ainda através da curva de transientes OJIP, foi possível verificar que a maioria das frações avaliadas apresentou uma banda J, de forma semelhante ao herbicida DCMU (figura 1B). Essas observações revelaram que está acontecendo o bloqueio do fluxo de elétrons no *pool* das quinonas (QA–QB) do PSII, sugerindo que os compostos presentes nas frações interagem com o sítio de ação de QB, ocupando o lugar da proteína D-1.



**Figura 1.** (A) Gráfico de radar dos efeitos das frações testadas (100 µg/mL) nas variáveis da fluorescência Chl *a* em discos foliares de espinafre, calculados através da curva OJIP. (B) Bandas transientes (J) da curva de emissão de fluorescência da Chl *a* (OJIP) para o DCMU e frações avaliadas.

### Conclusões

Frações brutas de diferentes partes de *B. rufa* apresentaram perfil de inibição da fotossíntese (afetaram o lado receptor de elétrons do PSII). Todas as frações foram analisadas por UHPLC-HRMS, onde se verificou que o perfil químico das mesmas é constituído principalmente por flavonoides. Os métodos cromatográficos estão sendo otimizados para a obtenção dos compostos ativos.

### Agradecimentos

UNIFESP, VALE S.A., UFMT, CAPES e FAPESP.

<sup>1</sup> Sampaio, O.M. *et al.* *Quim. Nova*, 35, 11, 2115-2118, 2012.

<sup>2</sup> Strasser, R.J. *et al.* *Photochem. Photobiol.*, 61, 32-42, 1995.

<sup>3</sup> T.A.M. Veiga, *et al.* *Archives of Biochemistry and Biophysics* 465, 38-43, 2007.

<sup>4</sup> Arato Ferreira, P. H., *et al.* *Chemistry & Biodiversity*, 13: 100–106, 2016

<sup>5</sup> Watrous, J., *et al.* *P. Natl Acad Sci USA*, 109, 26, 1743-1752, 2012.