

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia pela COVID-19 no ensino, pesquisa e extensão"



ANÁLISE EM HPLC-ESI-MS DE EXTRATOS DE *Anadenanthera colubrina* (VELL.) BRENAN E *Carica papaya* L.

Maria Anésia Sousa de ALENCAR¹, Nadghia Figueiredo Leite SAMPAIO², Denise Aline Casimiro BEZERRA², Cícera Natalia Figueiredo Leite GONDIM², Lucas Silva ABREU³, Josean Fechine TAVARES³, Marcelo Sobral da SILVA³, Henrique Douglas Melo COUTINHO⁴

Resumo: O presente trabalho propôs a desreplcação dos extratos de *C. papaya* e *A. colubrina* juntamente com uma revisão sistemática da literatura para identificar de forma rápida e eficiente das substâncias presentes nos extratos das folhas das espécies em estudo. A pesquisa resultou na identificação de 16 compostos de *C. papaya* já conhecidos na literatura dos quais destacam-se os alcaloides derivados da carpaina, ácidos fenólicos e flavonóides glicosilados (Tabela 1).

Palavras-chave: Desreplcação. *Carica papaya*. HPLC-ESI-MS.

1. Introdução

O estudo químico de plantas medicinais tem contribuído sobremaneira para a identificação estrutural e a comprovação do potencial farmacológico dos seus metabólitos. De acordo com Cechinel Filho e Yunes^[1], o número de publicações científicas relatando o isolamento e estudos farmacológicos de substâncias obtidas de plantas medicinais tem aumentado significativamente, o que contribui para a comprovação do seu potencial medicinal, já conhecido da medicina tradicional.

O rápido desenvolvimento de técnicas de separação por métodos cromatográficos, principalmente quando acoplados à equipamentos de análise

¹ Licencianda em Química, Universidade Regional do Cariri - URCA, e-mail: anesiasfisica@gmail.com.

² Universidade Regional do Cariri – URCA.

³ Universidade Federal da Paraíba – UFPB.

⁴ Orientador, Universidade Regional do Cariri - URCA, e-mail: hdmcoutinho@gmail.com.

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia pela COVID-19 no ensino, pesquisa e extensão"



espectrométrica, contribui para elucidação de inúmeros constituintes químicos de plantas de interesse farmacológico. Destacando-se nesse cenário técnicas como a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência além do acoplamento destas à Espectrometria de Massas por ionização de Eletrospray (HPLC-ESI-MS) ou à Ressonância Magnética (CL-RMN) que desempenham um papel fundamental na análise de amostras ambientais, aplicações bioquímicas e biotecnológicas, dentre outros usos.^[2]

2. Objetivo

O objetivo deste trabalho é realizar a desreplicação dos extratos das plantas *Anadenanthera colubrina* (Vell.), Fabaceae e *Carica papaya* L., Caricaceae já estudadas pelo Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular- LMBM, da Universidade Regional do Cariri- URCA, submetidos à análises por HPLC-ESI-MS.

3. Metodologia

Obtenção do Material Botânico e Local de Realização da pesquisa.

Todos os extratos foram cedidos pelo Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular- LMBM, da Universidade Regional do Cariri- URCA, Campus Pimenta, no Crato, Ceará. Posteriormente os dados obtidos foram analisados no programa *DataAnalysis* da Bruker.

Análise em Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas do extrato aquoso do decocto das cascas frescas de *A. colubrina* (Vell.) e extrato aquoso das folhas de *C. papaya*. Instrumentação e condições do Cromatógrafo líquido acoplado a espectrômetro de massas.

Foram utilizados 1,0 mg do extrato aquoso do decocto das cascas frescas de *A. colubrina* (Vell.) e extrato aquoso das folhas frescas por infusão de *C. papaya* dissolvidos em 1,0 mL de MeOH:H₂O (50:50) com ajuda do banho de ultrassom e filtrado utilizando filtro PVDF de 0,45 µm e analisados por HPLC-ESI-MS. A análise de HPLC-ESI-MS foi realizada utilizando um UFLC (Shimadzu), acoplado com um espectrômetro de massas ESI-Ion-Trap (AmaZon

X) ou a um ESI-TOF (microTOF II). Os experimentos de HPLC foram realizados utilizando uma coluna C₁₈ (Kromasil - 250 mm x 4,6 mm x 5 µm) com o gradiente de eluição: solvente A = H₂O com ácido fórmico (0,1% v/v); Solvente B = MeOH; Perfil de eluição foi um gradiente exploratório de 60 minutos, volume de injeção de 20 µL e fluxo de 0,6 mL/min. Os parâmetros de análise do ESI serão: capilar 4,5 kV, ESI nos modos positivo e negativo, offset da placa final 500 V, nebulizador 40 psi, gás seco (N₂) com fluxo de 8 mL/min e temperatura de 300°C.

4. Resultados

A desreplicação foi realizada para a identificação dos compostos conhecidos e já identificados ou não das espécies estudadas utilizando como base os padrões de fragmentações, espectros de MS/MS e dados da literatura (figura 01). Do extrato aquoso de *C. papaya* foram identificados 16 compostos de acordo com a tabela 01. Desses compostos destaca-se os alcaloides derivados da carpaina que são compostos marcadores da espécie^[4,6]. Além destes, foi possível identificar ácidos fenólicos e flavonóides glicosilados (tabela 01). As análises de *A. colubrina* seguem em análise.

Figura 01: Cromatogramas do pico base no modo positivo (preto) e no modo negativo (vermelho) do extrato aquoso de *Carica papaya*.

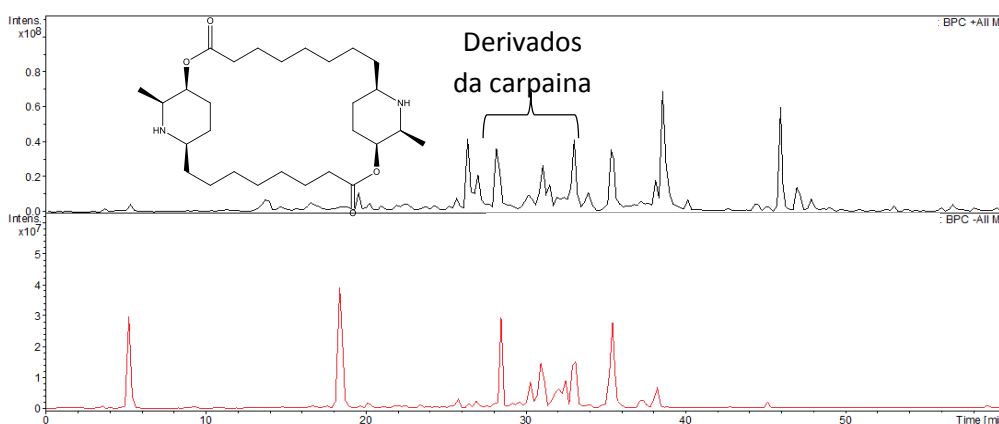


Tabela 01: Caracterização química por tentativa de identificação dos compostos presentes no extrato aquoso de *Carica papaya* por HPLC-ESI-MSⁿ.

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia pela COVID-19 no ensino, pesquisa e extensão"



Pico No.	t _R (min.)	m/z [M-H] ⁻ / [M+H] ⁺	MS ² /MS ³	Tentativa de assinalamento	Referência
1	5.2	341.1092/-	MS ² [341]: 179(100);	Ácido ceféico hexosídeo	[3]
2	5.9	191* ⁻ /-	MS ² [191]: 173 (27); 129 (97); 111 (100); 85 (5);	Ácido quínico	[4]
3	16.9	315.0715/-	MS ² [315]: 135(2.3); 153(100);	Ácido Protocatecúico hexosídeo	[3]
4	18.4	408.0417/-	MS ² [408]: 275(37); 259(100) /MS ³ [408→259]: 139 (100); 97 (25);	Glicotropaeolina	[5]
5	20.4	385* ⁻ /-	MS ² [385]: 223 (100); 205 (20); 161(0.43)	Ácido Sinápic hexosídeo	[3]
6	22.8	-/475*	MS ² [475]: 238 (100); 220 (26)	Dehidrocarpaina II	[5]
7	26.4	-/477.3673	MS ² [477]: 459 (43); 240 (100); 238 (67); 222 (19)	Dehidrocarpaina I	[5]
8	28.5	295.0463/-	MS ² [295]: 179 (100); 195 (12); 133 (47); 135(11); 115 (5)	Cafeiol malato	[4]
9	28.2	-/479.3843	MS ² [479]: 461 (12); 240 (100); 222 (18)	Carpaina	[4];[6]
10	30.9	755.2028/-	MS ² [755]: 609 (27); 591 (45); 489 (26); 343 (16); 301 (44); 300 (100) /MS ³ [755→300]: 271 (100); 255 (64); 179 (7); 152 (6)	Quercetina-3-O-(2G-α-L-ramnosil) -rutinosídeo	[7]
11	31.8	163.0407/-	MS ² [163]: 119(100); /MS ³ [163→119]: 93 (100);	Ácido Coumarico	
12	32.1	279.0507/-	MS ² [279]: 163(100); 133 (67); 119 (12); 115 (4)	p-Coumaroil malato	[4]
13	32.3	193.0505/-	MS ² [193]: 178(62); 149(68); 134 (100); 117(0.8) /MS ³ [193→134]: 106 (100);	Ácido Ferrúlico	[3]
14	32.9	739.2079/-	MS ² [739]: 575 (100); 473 (8); 393 (13); 323 (13); 285 (29); 284 (45.5)	Clitorina/ Kaempferol-3-O-(2G-α-L-ramnosil)rutinosídeo	[8][9]
15	35.4	609.1452/nd	MS ² [609]: 301 (100); 300 (43.01) /MS ³ [609→301]: 271 (100); 179 (60); 255 (59); 152 (2)	Quercetina-3-O-rutinosídeo (rutina)	[7];[4]
16	38.2	593.1503/nd	MS ² [593]: 285 (100); 284 (17.48); 255 (4.79); 227 (2.19)	Kaempferol-3-O-rutinosídeo	[4]

5. Conclusão

A desreplicação auxiliou na identificação rápida de substâncias anteriores estudadas, otimizando o reconhecimento de um perfil de compostos já presentes na literatura, assim, evitando o reisolamento. Esse estudo identificou 16 compostos presentes no extrato aquoso das folhas de *C. papaya* submetido à análise por HPLC-ESI-MS, tais como alcaloides derivados da carpaina, ácidos fenólicos e flavonóides glicosilados. O extrato da *A. colubrina* segue em análise.

6. Agradecimentos

Universidade Regional do Cariri-Urca. A CAPES, PIBIC pelo apoio financeiro.

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia pela COVID-19 no ensino, pesquisa e extensão"



7. Referências

- [1] CECHINEL FILHO, V., YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**. v. 21 n.1, 1998.
- [2] NICULAU, E.S., DE FREITAS, S.D.L. DE SÁ, I.C.G., FERNANDES, J. B., DA SILVA, M.F.G.F. Análise Quantitativa de Produtos Naturais em Plantas por CL-EM. **Revista Virtual de Química**, v.8, n.1, p. 204-230, 2016.
- [3] RIVERA-PASTRANA D.M., GONZALEZ-AGUIAR G.A., YAHIA E. M. Identification of Phenolic and Carotenoid Compounds in *Carica papaya* L. 'Maradol' Using Liquid Chromatography - Mass Spectrometry. **Acta horticulturae**. v.877, p.1197-1204. DOI: 10.17660 / ActaHortic.2010.877.163, 2010.
- [4] AFZAN, A., ABDULLAH, N. R., HALIM, S. Z., RASHID, B. A., SEMAIL, R. H. R., ABDULLAH, N., JANTAN, I., MUHAMMAD, H., ISMAIL, Z. Repeated Dose 28-Days Oral Toxicity Study of *Carica papaya* L. Leaf Extract in Sprague Dawley Rats. **Molecules**. v.17, p.4326-4342, 2012. DOI:10.3390/molecules17044326.
- [5] TANG, CHUNG-SHIH. NEW MACROCYCLIC AL-PIPERIDEINE ALKALOIDS FROM PAPAYA LEAVES: DEHYDROCARPAINE I AND II*. **Phytochemistry**, Vol. 18, p. 651-652, 1979.
- [6] Zunjar V, Dash, RP, Jivrajani, M., Trivedi, B., Nivsarkar, M. Atividade antitrombocitopênica de carpaine e extrato alcaloidal de *Carica papaya* linn. folhas em ratos Wistar trombocitopênicos induzidos por busulfan. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 181, p.20-25, 2016.
- [7] CALVACHE, N., J. CUETO, M., FARRONI, A., PLA, de E. M., GERSCHENSON, N., L., Caracterização antioxidante de novos concentrados de fibra alimentar a partir de polpa e casca de mamão (*Carica papaya* L.) **Journal of Functional Foods**. v.27, p.319–328, 2016.
- [8] - BRASIL, G., Efeito anti-hipertensivo da *Carica papaya* através da redução da atividade da ECA e melhora do barorreflexo. **Planta Med**, v. 80, p.1580-1587, 2014.
- [9] CHEN Y., YU, H., WU, H., PAN, Y., WANG, K., JIN, Y., ZHANG, C. Characterization and Quantification by LC-MS/MS of the Chemical Components of the Heating Products of the Flavonoids Extract in Pollen *Typhae* for Transformation Rule Exploration. **Molecules**. v.20, p. 18352-18366, 2015. DOI:10.3390/molecules201018352.