

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 202

ANÁLISE EM HPLC-ESI-MS DE EXTRATO DE *VACHELLIA FARNESIANA* L. WIGHT & ARN (ACÁCIA AMARELA)

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 o estudo da desreplicação do extrato da planta da *Vachellia farnesiana* L. Wight & Arn (acácia amarela) do Cariri Cearense que é estudada pelo Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular – LMBM, da Universidade Regional do Cariri – URCA. Submetido à Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplados à Espectrometria de Massas. Juntamente com uma revisão sistemática da literatura para identificar de forma rápida e eficiente das substâncias presentes nos extratos das folhas da espécie em estudo. A pesquisa resultou na identificação de 29 compostos no extrato das folhas de *V. farnesiana* (Fig 1). A tentativa de assinalamento dos compostos foi feita com base na interpretação dos seus padrões de fragmentação obtidos do espectro de massas (MS2 e MS 3). A identificação de compostos presentes no extrato da planta contribui para o direcionamento da investigação da sua atividade farmacológica e conseqüentemente no seu uso para a produção de novos fármacos.

Palavras-chave: Desreplicação. *Vachellia farnesiana* L Wight & Arn (acácia amarela). HPLC-ESI-MS.

1. Introdução

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

A utilização da técnica 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

1 Universidade Regional do Cariri, email: maria.alencar@urca.br

2 Universidade Federal do Cariri - URCA

3 Universidade Federal da Paraíba - UFPB

4 Universidade Regional do Cariri-URCA, email; hdmcoutinho@gmail.com.

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 202

papel fundamental na análise de amostras extratos de plantas, aplicações bioquímicas e biotecnológicas, dentre outros usos.^[2]

2. Objetivo

O objetivo do trabalho é realizar a desreplicação dos extrato da planta *Vachellia farnesiana* L. Wight & Arn (acácia amarela) já estudada pelo Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular- LMBM, da Universidade Regional do Cariri- URCA, submetidos à análises por HPLC-ESI-MS.

3. Metodologia

Análise em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas da infusão dos extratos etanólicos da vagem de *A. farnesiana*. Instrumentação e condições do Cromatógrafo líquido acoplado a espectrômetro de massas.

Foi utilizado 1,0 mg do seguinte extrato: extrato aquoso do extrato etanólico bruto da vagem de *A. farnesiana* dissolvido em 1,0 mL de MeOH:H₂O (50:50) com ajuda do banho de ultrassom, filtrado utilizando filtro PVDF de 0,45 µm e analisado por HPLC-ESI-MS. A análise de HPLC-ESI-MS foi realizada utilizando um UFLC (Shimadzu) contendo duas bombas de solvente LC-20AD, auto amostrador SIL-20AHT, controlador de sistema CBM-20A, 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 foram: capilar 4,5 kV, ESI no modo positivo, offset da placa final 500 V, nebulizador 50 psi, gás seco (N₂) com fluxo de 8 mL/min e temperatura de 300 °C. A fragmentação de CID foi realizada no modo auto MS/MS utilizando o modo de resolução avançada para o modo MS e MS/MS. Os espectros (m/z 50-3000) foram registados a cada 2 s.

4. Resultados

Para a identificação dos constituintes a desreplicação foi realizada 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 da vagem de *A. farnesiana* foram identificados 29 compostos. Galotaninos foram detectados e tentativamente atribuídos.

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA
XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO
CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 202

Tabela 3 - Caracterização e tentativa de assinalamento dos compostos identificados por HPLC-ESI-MSn em *V. farnesiana*.

Peak No.	<i>t_R</i> (min.)	<i>m/z</i> [M - H] ⁻	Molecular formula	Calcd.	eror (ppm)	MS ² /MS ³	Tentative assignment
1	10.9	331.0667	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	331.0671	1.0	MS ² [331]: 313; 271; 253; 241; 211; 193; 169; 125	Galloylhexose I
2	12.5	331.0667	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	331.0671	1.0	MS ² [331]; 271; MS ³ [331 → 271]: 211; 169; 125	Galloylhexose II
3	13.9	169.0147	C ₇ H ₆ O ₅	169.0142	-2.6	MS ² [169]: 125; 81/MS ³ [169 → 125]: 97; 81; 69	Galic acid
4	14.1	331.0653	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	331.0671	1.0	MS ² [331]: 271; 211; 169/MS ³ [331 → 271]: 211; 169; 125	Galloylhexose III
5	14.5	493.1195	C ₁₉ H ₂₆ O ₁₅	493.1199	0.8	MS ² [493]: 331; 313; 283; 271; 241; /MS ³ [493 → 313]: 283; 241; 223; 211; 169; 151; 125	Monogalloyl dihexose I
6	15.2	493.1193	C ₁₉ H ₂₆ O ₁₅	493.1199	1.3	MS ² [493]: 331; 313; 271; 211; /MS ³ [493 → 271]: 211; 169; 151; 125	Monogalloyl dihexose II
7	16.8	483.0775	C ₂₀ H ₂₀ O ₁₄	483.0780	1.2	MS ² [483]: 331; 313; 271/MS ³ [483 → 331]: 313; 271; 253; 241; 211; 193; 169; 151; 125	Digalloyl-hexoside I
8	17.2	483.0774	C ₂₀ H ₂₀ O ₁₄	483.0780	1.3	MS ² [483]: 423; 331; 271; 211; 193/MS ³ [483 → 331]: 313; 271; 241; 211; 193; 169; 151; 125	Digalloyl-hexoside II
9	18.6	483.0774	C ₂₀ H ₂₀ O ₁₄	483.0780	1.3	MS ² [483]: 331; 271/MS ³ [483 → 331]: 313; 271; 253; 241; 211; 193; 169; 151; 125	Digalloyl-hexoside III
10	19.3	645.1298	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₉	645.1309	1.6	MS ² [645]: 493; 313; 271/MS ³ [645 → 493]: 331; 313; 271; 211; 169	Digalloyl dihexoside I
11	20.0	483.0749	C ₂₀ H ₂₀ O ₁₄	483.0769	4.2	MS ² [483]: 445; 423; 331; 271; 241/MS ³ [483 → 331]: 271; 241; 211; 169	Digalloyl-hexoside IV
12	20.4	645.1299	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₉	645.1309	1.5	MS ² [645]: 493; 313; 271/MS ³ [645 → 493]: 331; 313; 271; 211; 169	Digalloyl dihexoside II
13	20.8	645.1307	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₉	645.1309	0.3	MS ² [645]: 493; 313/MS ³ [645 → 493]: 331; 313; 271; 211	Digalloyl dihexoside III
14	22.2	483.0773	C ₂₀ H ₂₀ O ₁₄	483.0780	2.7	MS ² [483]: 331; 313; 271; 211/MS ³ [483 → 271]: 253; 241; 211; 193; 169; 151; 125	Digalloyl-hexoside V
15	23.3	483.0774	C ₂₀ H ₂₀ O ₁₄	483.0780	1.3	MS ² [483]: 331; 313; 271; 211/MS ³ [483 → 313]: 253; 241; 223; 211; 193; 169; 151; 125	Digalloyl-hexoside VI
16	23.3	645.1306	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₉	645.1309	0.4	MS ² [645]: 607; 571; 493; 321; 313; 271/MS ³ [645 → 321]: 169; 151; 125	Digalloyl dihexoside IV
17	23.8	321.0250	C ₁₄ H ₁₀ O ₉	321.0252	0.6	MS ² [321]: 169; 125/MS ³ [321 → 169]: 125	Digallic acid
18	24.4	635.0882	C ₂₇ H ₂₄ O ₁₈	635.0890	1.2	MS ² [635]: 483/MS ³ [635 → 483]: 423; 331; 313; 271; 211	Tri-galloyl-hexoside I

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA
XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO
CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 202

19	25.8	635.0877	C ₂₇ H ₂₄ O ₁₈	635.0890	2.0	MS ² [635]: 483/MS ³ [635 → 483]: 331; 313; 271; 211	Tri-galloyl-hexoside II
20	26.4	635.0880	C ₂₇ H ₂₄ O ₁₈	635.0890	1.5	MS ² [635]: 483/MS ³ [635 → 483]: 331; 313; 271; 211	Tri-galloyl-hexoside III
21	27.0	473.0355	C ₂₁ H ₁₄ O ₁₃	473.0362	1.4	MS ² [473]: 321/MS ³ [483 → 321]: 169; 125	Trigallic acid
22	27.5	635.0890	C ₂₇ H ₂₄ O ₁₈	635.0890	0.0	MS ² [635]: 483/MS ³ [635 → 483]: 423; 331; 313; 271; 211	Tri-galloyl-hexoside III
23	30.1	197.0456	C ₉ H ₁₀ O ₅	197.0455	-0.2	MS ² [197]: 169; 125/MS ³ [197 → 169]: 125	Ethyl gallate I
24	31.2	349.0559	C ₁₆ H ₁₄ O ₉	349.0565	4.6	MS ² [349]: 197/MS ³ [349 → 197]: 169; 125	Ethyl digallate
25	31.2	335.0400	C ₁₅ H ₁₂ O ₉	335.0409	2.6	MS ² [335]: 183/MS ³ [335 → 183]: 168; 124	Methyl digallate
26	33.9	579.1716	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	579.1719	0.6	MS ² [579]: 271/MS ³ [579 → 271]: 177; 151; 125; 119; 107	Naringin or Narirutin
27	34.8	433.1132	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	433.1140	1.9	MS ² [433]: 271/MS ³ [433 → 271]: 177; 151; 125; 119; 107	Naringenin-O-hexoside
28	36.6	349.0560	C ₁₆ H ₁₄ O ₉	349.0565	1.5	MS ² [349]: 197/MS ³ [349 → 197]: 169; 125	Ethyl digallate II
29	37.4	501.0694	C ₂₃ H ₁₈ O ₁₃	501.0675	-3.9	MS ² [501]: 349; 197/MS ³ [501 → 349]: 169; 125	Ethyl trigallate

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 202

Conclusão

As análises em HPLC-DAD-ESIMS n das espécies detectaram a presença de 29. A identificação de compostos presentes em extratos de plantas contribui para o direcionamento da investigação da sua atividade farmacológica e conseqüentemente no seu uso para a produção de novos fármacos compostos de diferentes classes.

5. Referências

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.

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.

SILVA F. M. A., KOOLEN, H. H. F., ALMEIDA, R. A., DE SOUZA, A. D. L., PINHEIRO, M. L. B. Desreplicação de alcaloides aporfínicos e oxoaporfínicos de *Unonopsis guatterioides* por ESIT-MS. Química Nova, v. 35, n. 5, p.944-947, 2012.

CONTRERAS, M. M., BRIBI, N., GÓMEZ-CARAVACA, A. M., GÁLVEZ, J., SEGURA-CARRETERO, A., Alkaloids Profiling of *Fumaria capreolata* by Analytical Platforms Based on the Hyphenation of Gas Chromatography and Liquid Chromatography with Quadrupole-Time-of-Flight Mass Spectrometry. International Journal of Analytical Chemistry, V. 2017, Article ID 5178729, 2017.

DE LIMA, B. R., SILVA, F. M. A., SOARES, E. R., ALMEIDA, R. A., SILVA-FILHO, F. A. , BARISON, A., COSTA, E. V., KOOLEN, H. H. F., SOUZA, A.D.L., PINHEIRO, M. L. B. Integrative Approach Based on Leaf Spray Mass Spectrometry, HPLCDADMS/MS, and NMR for Comprehensive Characterization of Isoquinoline- Derived Alkaloids in Leaves of *Onychopetalum amazonicum* R. E. Fr. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 31, n. 1, p. 79-89, 2020.

STEVIGNY, C., JIWAN, J. H., RAOUL ROZENBERG, DE HOFFMANN, E., QUETIN-LECLERCQ, J. Key fragmentation patterns of aporphine alkaloids by electrospray ionization with multistage mass spectrometry. Rapid Communications in Mass Spectrometry. v.18, p. 523–528, 2004.