

IDENTIFICAÇÃO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS EM EXTRATOS DE *GUADUA ANGUSTIFOLIA* KUNTH

Filipe Bovolin Reis¹; João Kazlauckas³

Orientador: Paulo Roberto H. Moreno²

Instituto de Química da USP

filipe.bovolin@usp.br¹; prmoreno@iq.usp.br²; joakazlauckas@gmail.com³

Introdução e Objetivos

Os bambus são plantas com diversas aplicações na construção, agricultura, medicina e entre outros. A espécie *Guadua angustifolia* Kunth, nativa da América, destaca-se por suas propriedades biológicas. Estudos identificaram compostos com potencial ação antioxidante e inibidora da enzima tirosinase, associada à produção de melanina (OLIVEIRA, 2019). Desse modo, o foco principal deste trabalho é identificar as substâncias químicas que podem ser responsáveis por essas atividades observadas, visando possíveis aplicações farmacológicas e cosméticas.

Métodos e Procedimentos

Dois extratos brutos foram preparados primeiramente triturando as folhas e os colmos separadamente até a formação de pequenos pedaços com pó. A extração foi realizada em aparelho de Soxhlet com álcool 70% até exaustão. Na sequência, o solvente foi eliminado sob pressão reduzida em evaporador rotatório.

Os extratos foram submetidos à extração sólido-líquido com solventes de polaridade crescente, na sequência: hexano, clorofórmio, acetato de etila e *n*-butanol (OLIVEIRA, 2019; NUNES, 2020).

A fração clorofórmica das folhas foi particionada em 8 subfrações através da Cromatografia em Coluna (CC), utilizando sílica gel como fase estacionária. A fase móvel foi feita em gradiente da seguinte forma: Clorofórmio – Hexano 1:1, Clorofórmio 100%, Clorofórmio – Metanol 95:5, Clorofórmio – Metanol 90:10, Clorofórmio – Metanol 80:20, Clorofórmio – Metanol 70:30, Clorofórmio – Metanol 50:50 e Metanol 100%.

Os extratos brutos, as frações e as subfrações foram analisadas através de Cromatografia a Gás acoplada a Espectrômetro de Massas (CG-

EM), e Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção por Arranjo de Diodos (CLAE-DAD).

Os espectros de massas obtidos foram comparados com bibliotecas instaladas nos equipamentos (NIST 08/Willey 2014), com a literatura (ADAMS, 2007) e os espectros de UV com padrões injetados no HPLC junto com os tempos de retenção.

Para a visualização de flavonoides nas CCDs, foi preparado o reagente NP/PEG, a partir de soluções metanólica de NP 1% e etanólica de PEG 5%, e aplicado sobre as placas (WAGNER, 1996).

Resultados e Discussões

Análise das frações por CCD: neste método, o sistema que demonstrou maior eficiência na separação dos compostos foi o “Clorofórmio – Acetato de Etila – Ácido Fórmico (161:20:20)”. Na figura 1(a), estão apresentados os perfis cromatográficos das frações de hexano (H), clorofórmio (C), *n*-butanol (B) e acetato de etila (A) lado a lado, que foram feitas em placas de mesmo tamanho. Na Figura 1(b) ao lado, é possível visualizar o mesmo perfil da fração de acetato de etila após aplicação do reagente NP/PEG.

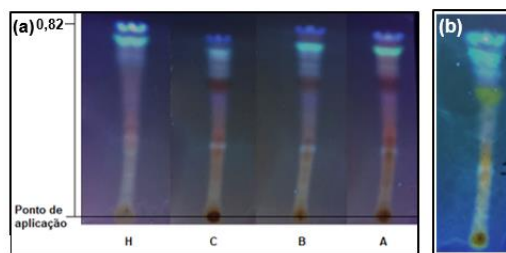


Figura 1: Perfis cromatográficos antes (a) e depois (b) da aplicação do NP/PEG em luz ultravioleta 365 nm.

As frações acetato de etila, *n*-butanol e clorofórmio apresentam regiões em laranja e marrom escuro (R_f 0,28 e 0,63, respectivamente) que reagem com o NP/PEG gerando manchas nas cores verde-amarelada e laranja. Regiões que apresentam as cores amarela, verde ou azul após a reação com NP/PEG podem representar flavonoides.

A fração acetato de etila (FFAcEt) foi analisada junto com um padrão de naringina sob os sistemas: Tolueno – Éter Dietílico – Ácido Acético (6:4:1) (sistema A), Tolueno – Éter Dietílico (7:3) (sistema B) e Tolueno – Éter Dietílico – Ácido Acético - Acetona (120:80:20:1) (sistema C), demonstrando uma banda azul em comum (R_f 0,43 calculado para o sistema A), apesar de nem todo padrão ter sido eluído (Figura 2).

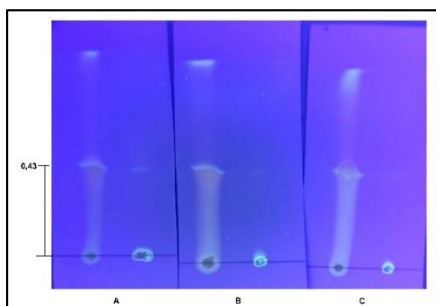


Figura 2: CCDs da FFAcEt com sistemas A, B e C

Análise das amostras por CG-EM: as frações de clorofórmio, acetato de etila, e *n*-butanol das folhas e a fração clorofórmica dos colmos foram avaliadas por CG-EM, pois apresentaram maior rendimento. Com auxílio desta técnica, foi possível caracterizar 17 compostos. A Tabela 1 contém os compostos encontrados e suas respectivas amostras.

Análise das amostras por CLAE-DAD: a fração clorofórmica das folhas foi subsequente fracionada em uma coluna, visto que demonstrou maior rendimento. Todas as subfrações, as frações foliares (com exceção da hexânica) e os extratos foram analisados via CLAE-DAD. Com auxílio desta técnica, foi possível caracterizar 7 compostos que pertencem aos grupos dos flavonoides e fenólicos. A Tabela 1 contém os compostos encontrados e suas respectivas amostras.

Conclusões

O presente trabalho avaliou a composição química da espécie de bambu americano *G. angustifolia*, sendo possível anotar a presença

de 25 compostos. Destes, 17 foram assinalados via CG-EM, 7 via CLAE-DAD e 1 via CCD. Dos compostos encontrados, 5 pertencem à classe dos flavonoides e 2 a dos ácidos fenilpropanoídicos. Dentre os compostos assinalados, a naringina e o ácido *p*-cumárico possuem atividades antioxidante e anti-tirosinase fortes, comprovadas em estudos anteriores. A presença desses compostos, além de outros como a vitexina e a epicatequina, pode estar relacionada com as atividades antioxidante e anti-tirosinase reportadas para *G. angustifolia*.

Tabela 1: Compostos anotados por CLAE-DAD, CG-EM e CCD

Composto	Amostra	Método
Naringina	FFAcEt	CCD
3-Hidroxycarbo-furano	FFClo, FFAcEt, FFBu	CG-EM
6,10,14-Trimetilpentadecan-2-ona	Todas as frações	CG-EM
Ácido palmítico	FFClo, FFAcEt, FFBu	CG-EM
Álcool cerílico	FFClo, FFAcEt, FFBu	CG-EM
Clonasterol	FFClo, FFAcEt, FFBu	CG-EM
Colest-4-en-3-ona	FFClo	CG-EM
Di-hidrofitol	FFClo, FFAcEt, FFBu	CG-EM
Estearato de metila	FFClo	CG-EM
Estigmasterol	FFClo	CG-EM
Heptacosanol	FFClo, FFBu	CG-EM
Heptadecanoato de etila	FFClo, FFAcEt, FFBu	CG-EM
Hexadecanoato de metila	FFClo, FFAcEt, FFBu	CG-EM
Isotilol	FFClo, FFAcEt, FFBu	CG-EM
Neofitadieno	FFClo, FFAcEt, FFBu	CG-EM
Pentadecanal	FFClo, FFAcEt, FFBu	CG-EM
Pentatriacotano	FFClo	CG-EM
Triacotano	FFClo	CG-EM
Ácido ferúlico	SF3	CLAE-DAD
Ácido <i>p</i> -cumárico	SF3 à SF7	CLAE-DAD
Caempferol-3-O-β-rutinosídeo	SF7	CLAE-DAD
Epicatequina	SF3	CLAE-DAD
Isoquercetina	EF	CLAE-DAD
Orientina	SF5	CLAE-DAD
Vitexina	EF, SF7	CLAE-DAD

Referências

- Adams, R. P. *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry*. Ed. 4. Chicago: Allured Publishing Corporation, 2007
- Nunes, F. A. *Composição química e atividades biológicas de extratos e frações de Guadua chacoensis (Rojas) Londoño & P.M. Peterson*. 2020.
- Oliveira, D. C. S. *Composição química e atividades biológicas de extratos de Guadua angustifolia Kunth*. 2019.
- Wagner, H. *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*. Springer, 1996.