

8º Encontro Nacional de Cromatografia

Universidade da Beira Interior
Faculdade de Ciências da Saúde

2 a 4 de Dezembro de 2013



Centro de Investigação em Ciências da Saúde
Health Sciences Research Centre



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Covilhã | Portugal



100 ANOS

P.033. Determinação estrutural de compostos fenólicos partindo da absorção UV recolhida *on-line* por HPLC/DAD

Débora Amâncio¹, Marisa Serrano², Maria Graça Campos¹, Ofélia Anjos^{2,3}

¹*Drug Discovery Group, Center for Pharmaceutical Studies, Faculty of Pharmacy, University of Coimbra, Health Sciences Campus, Azinhaga de Santa Comba, 3000-548 Coimbra, Portugal*

²*Instituto Politécnico de Castelo Branco, Escola Superior Agrária, Apartado 119, 6001-909 Castelo Branco, Portugal*

³*Centro de Estudos Florestais, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal*

As matrizes vegetais são muito complexas (Balasundram *et al*, 2006) e o método desenvolvido (Campos e Makham 2007) estabelece um tempo mais longo de análise de modo a que se possam de uma só vez avaliar vários subgrupos de compostos fenólicos simples e combinados, nomeadamente flavonóides livres e glicosilados.

O objectivo deste trabalho foi a avaliação da potencial flora polinífera portuguesa como fonte de flavonóides para aplicação na pesquisa de novas moléculas activas recorrendo a um *screening* prévio por HPLC/DAD. A determinação estrutural de cada molécula foi feita de acordo com Campos e Makham (2007) e que permite depois avaliar se existe potencial para determinada bioactividade associada a essa estrutura. As bioactividades vão desde a antioxidante, que pode ser explorada de forma a avaliar o tempo de validade da matéria-prima e/ou na determinação da sua acção anti-inflamatória, até à validação de processos de secagem sem perda desse potencial. Por outro lado, por exemplo, as flavonas podem ser estudadas como possíveis alvos de actividade *benzodiazepina-like* e as isoflavonas como *estrogénio-like* (Gomes *et al*, 2009). Sempre que as moléculas aparecem muito hidroxiladas ou metiladas, o potencial anti-redox e a capacidade antibacteriana pode também ser avaliada.

As amostras foram colhidas directamente nos estames das plantas e serviram de base à identificação do material polínico colectado pelas abelhas.

De uma forma resumida as amostras depois de colhidas e secas são extraídas com Etanol 50% (1:1, V/V) (cerca de 10 mg de amostra/1 ml de solvente), submetidas a ultra-sons, centrifugadas (5000 rpm/10 min) e o sobrenadante é depois usado para injeção em HPLC/DAD (Diode Array Detector) num sistema Gilson 170, com uma coluna Waters Spherisorb ODS2 (5 µm) (4.6x250 mm) estabilizada a 25°C, usando uma mistura eluente num gradiente de água-acetonitrilo, com um fluxo de 0,8 mL/min. Os cromatogramas padrão foram

registados a λ 260 e 340 nm (Campos *et al*, 1997) e os dados espectrais recolhidos entre 220 e 400 nm (os espectros dos ácidos fenólicos e dos flavonóides em estudo estão todos nesta gama de absorção no ultra-violeta). A análise dos resultados fez-se com *software* Unipoint e para a determinação estrutural de cada molécula recorreu-se às regras estabelecidas por Campos e Makham (2007).

As amostras analisadas foram: *Acacia sp.*, *Bignonia sp.*, *Carpobrotus edulis.*, *Coleostephus myconis*, *Crepis sp.*, *Digitalis purpurea*, *Galactites tomentosus*, *Lavatera sp.*, *Ligustrum sp.*, *Melaleuca sp.*, *Olea europaea L.* *Opuntia sp.*, *Papaver rhoeas*, *Silybum marianum*, *Tilia sp.* e *Viburnum*.

O pólen colhido pelas abelhas revelou-se preferencialmente de *Crepis* e de *Olea europaea*. Para os flavonóides a estrutura mais comum nas amostras analisadas foi de derivados 3-*O*-glicosilados de quercetina e de caemferol, para além de polímeros de ácidos fenólicos. A estrutura menos vulgar foi um derivado do caemferol mas que deve ter derivatizações no anel A em C6 ou C8, o que a torna mais evidente para futura avaliação da sua actividade terapêutica, pois a possibilidade de ligação aos receptores GABA_A, pode ser uma das possibilidades. De entre todas as espécies em estudo a probabilidade de se poder estabelecer uma relação com maior potencial terapêutico foi o pólen de *Viburnum*, de *Tília*, de *Carpobrotus* e de *Opuntia* (Figura1).

Também o facto de se terem observado abelhas a colherem pólen de oliveira deixou algumas ressalvas uma vez que a maioria das *cultivares* desta espécie é alérgica.

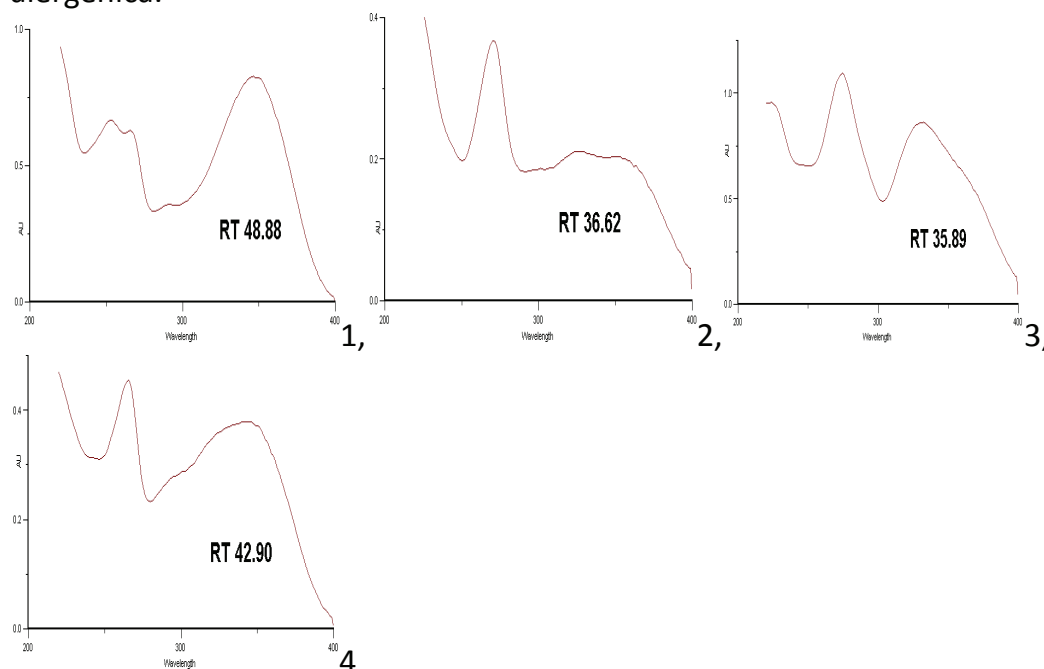


Figura 1. Espectros para a determinação das estruturas menos comuns: 1- *Viburnum*, 2 - *Tilia*, 3 – *Carpobrotus*, 4 - *Opuntia*

Palavras chave: flora polinífera; flavonoides; moléculas ativas; HPLC/DAD.

Balasundram N., Sundram K., Samman S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1): 191-203.

Campos MG, Markham KR. 2007. Structure information from HPLC and on-line measured absorption spectra – Flavone, Flavonols and Phenolic Acids. 1st. Ed. Imprensa da Universidade de Coimbra: Portugal, 1-118.

Campos MG, Mitchel K, Cunha A, Markham K. 1997. A systematic Approach to the characterisation of Bee Pollens via their Flavonoid/Phenolic Profiles, *Phytochem Anal* 8:181-185.

Gomes, Nelson G.M.; Campos, Maria G.; Órfão, João M.C.; Ribeiro, Carlos A.F. 2009. Plants with neurobiological activity as potential targets for drug discovery. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 33(8): 1372-1389.