

Obtenção de Frações Enriquecidas de Flavonóides e Isocumarinas de *Eriocaulon ligulatum* (Eriocaulaceae) por HSCCC (High Speed Counter-current Chromatography)

Marcelo Aparecido da Silva(PG)¹, Lourdes Campaner dos Santos (PQ)¹, Miriam Sannomiya(PG)¹, Wagner Vilegas (PQ)¹

¹Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química, C.P. 355, CEP 14800-900 - UNESP- Araraquara- SP, Brasil. e-mail: vilegasw@iq.unesp.br

Palavras Chave: *Eriocaulon*, HSCCC, Isocumarinas.

Introdução

No campo dos produtos naturais, o HSCCC pode ser usado para fracionar extratos brutos, assim como frações semi-puras, em quantidades que variam de miligramas a gramas. Esta técnica é bastante empregada para separar substâncias muito polares, pois estas são adsorvidas em fases estacionárias como a sílica, causado com isso uma perda de massa ou até muitas vezes a retenção irreversível da amostra.

O objetivo deste trabalho foi o de estudar o extrato metanólico dos capítulos de *Eriocaulon ligulatum* (Eriocaulaceae) por HSCCC, com a finalidade de desenvolver uma metodologia preparativa rápida para a separação entre flavonóides (agliconas e heterosídeos) e as isocumarinas. A obtenção destas frações visa à produção de quantidade suficiente de massa para a realização de ensaios biológicos.

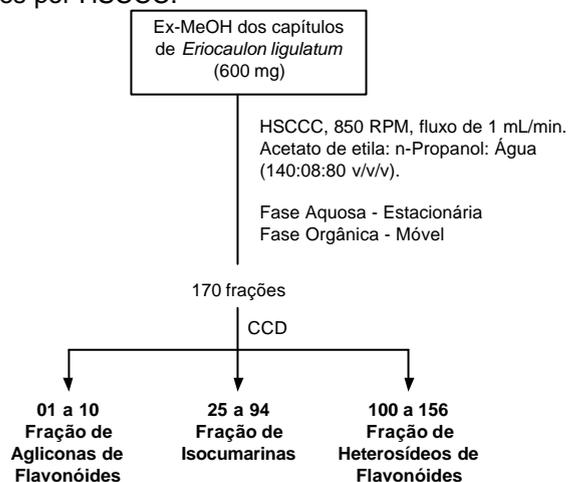
Resultados e discussões

Após a escolha do sistema de solvente Acetato de etila: n-Propanol: Água (140:08:80 v/v/v), preparou-se a mistura em funil de separação. Os solventes foram agitados e deixados em repouso por aproximadamente 12 horas para que houvesse a separação das fases e também proporcionar a saturação de ambas as fases do sistema. A fase inferior (aquosa) foi usada como fase estacionária enquanto que a fase superior (orgânica) foi usada como fase móvel. A fase inferior (estacionária) foi bombeada para a coluna. Depois da coluna toda preenchida (325 mL), a fase superior (móvel) foi bombeada com um fluxo de 1 mL / min para a coluna com o equipamento ligado a uma velocidade de 850 RPM. O volume morto medido foi de 36 mL, correspondendo a 11.1% do total de fase estacionária. Pesou-se 600 mg do extrato bruto e dissolveu-se em uma mistura de 1:1 da fase aquosa e da fase orgânica, totalizando 8 mL da mistura. A mistura foi filtrada e injetada no loop com auxílio de uma seringa. Coletou-se frações de 5 mL cada, obtendo-se 120 frações em aproximadamente 06 horas.

Todas as frações foram analisadas por CCD tendo o sistema CHCl₃: MeOH: NPropanol: H₂O (5:6:1:4

v/v/v/v) com eluente, e reveladas com uma solução de anisaldeído/H₂SO₄, NP/PEG e luz UV (254nm e 366nm). Visualizou-se que as 10 primeiras frações apresentavam uma mistura de agliconas de flavonóides, pois na placa apareceram manchas com Rf's e coloração semelhantes às da quercetina. As frações 25 a 94 apresentam fosforescência na luz UV, indicando com isso a presença de uma mistura de isocumarinas (comparadas aos padrões). Já as frações 100 a 156, essas recolhidas com a rotação do HSCCC desligado, apresentaram manchas com Rf's próximos ao da quercetina glicosilada e amareladas quando reveladas com NP/PEG, caracterizando assim a presença dos heterosídeos flavonoídicos.

A fig. 1 apresenta o esquema de obtenção das frações por HSCCC.



Conclusão

A análise do extrato de *Eriocaulon ligulatum* por HSCCC mostrou-se eficiente para a separação de frações contendo mistura de flavonóides e frações de isocumarinas também em mistura. Esse resultado é importante, pois a separação é feita em um período de tempo curto, favorecendo com isso a obtenção de material em quantidade suficiente para realização de testes biológicos que necessitam de frações isocumarínicas e frações flavonoídicas do extrato polar da planta.

Agradecimentos

FAPESP, CAPES, FUNDUNESP e CNPq

¹Harborne, J.B. 1986. *The flavonoids: Advances in Research*, 1rd ed. Chapman and Hall, London, (675pp).

²Yuan, L. M. *et al.*, **J. Chromatogr. A**; v. 927, p. 91-96, 2001.