

Estimativa da Retenção e Eficiência de Separação de Amidas de *Piper ottonoides* em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Priscila F. P. Santos^{*1} (IC), José L. Mazzei² (PQ), Luiz A. d'Avila³ (PQ),
Ligia M. M. Valente¹ (PQ), Rita C. A. Pereira⁴ (PQ).

¹Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Dep. Química Orgânica, CT, Bl A, Ilha do Fundão, 21941-909, Rio de Janeiro, RJ, cilla_fps@yahoo.com.br. ²Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, RJ. ³Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Dep. Processos Orgânicos, RJ. ⁴Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.

Palavras Chave: CLAE, Piperaceae, *Piper ottonoides*, piperamidas

Introdução

Piper ottonoides Yancker (Piperaceae) é um arbusto ereto de ocorrência na Amazônia brasileira e conhecido como João-Brandim. Suas raízes são usadas popularmente como anestésico local no tratamento de dor de dente e de garganta. Estudos preliminares da espécie realizados pelo grupo¹ levaram à detecção em suas folhas e raízes, por técnicas de RMN 1D e 2D, de duas piperamidas isobutílicas já conhecidas: piperovatina, com propriedades anestésica, piscicida e ativadora de glândulas salivares^{2,3} e chingchengeamida⁴, além de uma de estrutura inédita: ottonoideamida. A continuação desse estudo envolveu a tentativa de isolamento dessas substâncias com o intuito de confirmar suas estruturas. No entanto, os baixos rendimentos e a dificuldade de separação das mesmas por técnicas cromatográficas clássicas em fase normal, como CC e CCD-Prep, encaminharam à utilização de CLAE em fase reversa. As primeiras tentativas com o uso dessa técnica utilizando diretamente condições disponíveis na literatura ou modificações empíricas das mesmas não foram bem sucedidas, surgindo assim a necessidade de um estudo mais aprofundado sobre os diversos parâmetros cromatográficos que envolvem a separação dessas substâncias em CLAE semi-preparativa (SP).

Para o planejamento e a otimização do isolamento de substâncias naturais por CLAE-SP, é importante avaliar o efeito da composição da fase móvel na separação através do comportamento dos parâmetros de retenção e eficiência. Desse modo, os cromatogramas podem ser simulados a partir de modelos matemáticos, nos quais se estima condições otimizadas de separação injetando uma quantidade mínima de material⁵.

O presente trabalho descreve a avaliação do efeito da composição da fase móvel em CLAE-SP na retenção, seletividade e eficiência de separação das piperamidas encontradas em *P. ottonoides*.

Resultados e Discussão

Uma fração enriquecida em piperamidas obtida a partir do extrato metanólico das folhas de *P. ottonoides* por CC sucessivas em Sephadex LH-20 e gel de sílica foi analisada em coluna LiChrosart (250 x 4,6 mm), com fase LiChrospher RP18 (5 µm) à temperatura ambiente com vazão de 1 mL/min de ACN-H₂O em condições isocráticas nas composições volumétricas de ACN (%ACN): 50, 57, 64, 71 e 78. A detecção foi acompanhada a 260 e 340 nm.

A partir dos valores de tempo de retenção e de largura do pico, os parâmetros adimensionais relativos à retenção (fator de capacidade - *k*) e à eficiência de separação (altura reduzida do prato teórico - *h*) foram estimados para cada piperamida. Os parâmetros de retenção foram ajustados com diferentes modelos de dependência⁶ com a %ACN e, os coeficientes de correlação encontrados (≥0,997) revelaram o melhor ajuste com a equação quadrática baseada na teoria dos parâmetros de solubilidade. A altura reduzida do prato, nas condições ensaiadas, foi constante para as piperamidas no valor de $5,4 \pm 1,7$, não sendo significativas quaisquer relações com %ACN ou com a viscosidade da fase móvel.

Conclusões

A partir do ajuste do *k* em função da composição da fase móvel segundo a teoria dos parâmetros de solubilidade, será possível estimar o tempo de retenção de cada pico em condições não avaliadas. Os valores encontrados de *h* em torno de um valor médio indicaram que a variação da composição da fase móvel não aumenta o fenômeno de dispersão. A associação dos resultados obtidos permitirá a simulação do cromatograma desta fração enriquecida em piperamidas em quaisquer condições cromatográficas, auxiliando no isolamento em CLAE dessas substâncias.

Agradecimentos

CNPq – PIBIC

¹ Santos, P. F. P.; Valente, L. M. M. *et al.* 28^a RASBQ 2005, PN-114.

² McFerren, M. A.; Rodriguez, E. J. *J. Ethnopharmacol.* 1998, 50, 183.

³ Parmar, V. S.; Jain, S. C. *et al. Phytochemistry* **1997**, *46*, 597.

⁴ Zhihui, D.; Jingkai, D. *et al. Phytochemistry* **1991**, *30*, 3797.

⁵ Mazzei, J. L.; d'Avila, L. A. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **2003**, *26*, 177.

⁶ Valkó, K.; Snyder, L. R.; Glajch, J. L. *J. Chromatogr. A*, **1993**, *656*, 501.