

# “Metodologias de extração e monitoramento por CLAE/UV de biflavonóides nos extratos botânicos de *Cupressus lusitanica*”

Luciana da Silva Amaral (PG)\*<sup>1</sup>, Edson Rodrigues Filho (PQ)<sup>1</sup>  
 lu\_samaral@yahoo.com.br, edino@pesquisador.cnpq.br

<sup>1</sup> LaBioMMi - Departamento de Química - Universidade Federal de São Carlos

Palavras Chave: biflavonoides, *Cupressus lusitanica*, CLAE/UV

## Introdução

Os principais constituintes químicos relacionados à quimiotaxonomia do gênero *Cupressus* são os biflavonóides. Recentemente, foram encontradas várias árvores de *Cupressus lusitanica* no campus da UFSCar e pode-se perceber que estas estão infectas por fungos. Iniciou-se um estudo para verificar o paralelismo entre a infestação fúngica e a síntese de biflavonóides pela planta hospedeira. Em um primeiro estágio foram encontrados os biflavonóides cupressoflavona e amentoflavona. A partir deste resultado, foram desenvolvidas 3 metodologias de extração e monitoramento por CLAE/UV desta classe de compostos.

## Resultados e Discussão

Cada método de extração utilizou 100mg de folhas de *C. lusitanica* secas e moídas. No método A, foram adicionados 2 mL de ACN ao material vegetal e sonificados por 15 minutos. O sobrenadante foi retirado e pré-purificado em cartucho de C18 e os compostos eluídos com 2 mL de THF. O extrato foi monitorado por CLAE/UV empregando o método cromatográfico polares 2. Já o método de extração B utilizou como extrator 2 mL de H<sub>2</sub>O: ACN (7:3) e ultrassom por 15 minutos. Removeu-se o sobrenadante e a este foi adicionado 2 mL CHCl<sub>3</sub>, para separação dos compostos de polaridade inferior. A amostra foi concentrada em speed vac e analisada empregando o método cromatográfico polares 21. O último procedimento consistiu na extração ácido/base (método C) empregando MeOH e ultrassom por 2 min., seguido da adição de NH<sub>4</sub>OH 0,1 mol/L e ultrassom por mais 5 min. Ao sobrenadante foi adicionado HCl concentrado até obtenção de pH ~ 4 e os compostos fenólicos foram extraídos com AcOEt. O extrato resultante foi analisado pelo método bf\_ab.

Em todas as análises por CLAE/UV empregou-se fase estacionária Gemini 10μ C18 110A da marca Phenomenex. Utilizou-se modo reverso de eluição contendo como fase móvel MeOH/ACN 1:1 e H<sub>2</sub>O milli-Q, ambos acidificados com 0,1% de TFA. O método cromatográfico encontra-se na Tabela 1.

Apesar de possuir várias bandas cromatográficas, o método A não se mostrou eficiente, uma vez que não foram observados, no espectro no UV, absorções

características de biflavonóides (máximos de absorção em ~ 270nm e 330 nm). Enquanto que os métodos B e C apresentaram várias bandas com espectros no UV característicos destes compostos. Destacou-se, porém, o método de extração AB, devido a grande quantidade de bandas cromatográficas referentes aos compostos fenólicos em estudo.

Tabela 1. Métodos cromatográficos

Polares 21		Apolares 2		Bf_ab	
Tempo (min)	%B	Tempo (min)	%B	Tempo (min)	%B
0,01	15	0,01	60	0,01	25
10	40	30	100	35	100
35	40	40	100	40	100
36	100	40,01	60	40,01	25
40	100	60	60	45	25
41	15				
50	15				

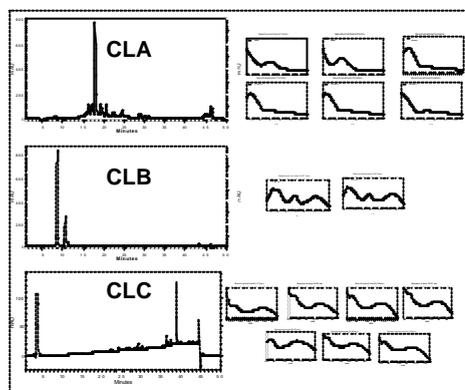


Figura 1. Cromatogramas a 232 nm e espectros no UV dos extratos obtidos pelos métodos A, B e C

## Conclusões

O método de ácido/base mostrou-se o mais eficiente na extração de biflavonóides.

## Agradecimentos

A FAPESP pela bolsa concedida e ao CNPQ e CAPES.

<sup>1</sup> Romane, A., Galardi, C., Pinelli, P., Mulinacci, N., Heimler, D., *Chromatographia*, **56**, 465-474, 2002.