Aplicação do conceito *scale-up* no isolamento de derivados do ácido galoilquinico de *Byrsonima fagifolia* por HPLC

Leonardo Perez de Souza (IC)*, Viviane Cândida da Silva (PQ), Lourdes Campaner dos Santos (PQ), Wagner Vilegas (PQ), Clenilson Martins Rodrigues (PQ) **leonardoperezzz@hotmail.com**

Departamento de Química Orgânica, IQ - UNESP, C.P. 355, CEP 14800-900 - Araraquara - SP, Brasil.

Palavras Chave: *HPLC-PDA, scale-up, infusão, Byrsonima fagifolia.*

Introdução

Byrsonima fagifolia é uma espécie nativa do Cerrado brasileiro. Seus frutos são utilizados como alimento e a infusão de suas cascas e folhas empregada na medicina popular. Com relação às atividades biológicas, *B. fagifolia* demonstrou promissora atividade antiulcerogênica, antidiarréica, antimicrobiana e contra *Helicobacter pylori*[1]. A complexidade do infuso dificulta a utilização de técnicas de isolamento convencionais na busca das substâncias responsáveis pelas atividades observadas. Portanto, este trabalho descreve procedimento para isolamento em HPLC semi-preparativo, sendo empregado o conceito de *scale-up* no desenvolvimento do método de separação no modo analítico para transposição no modo semi-preparativo.

Resultados e Discussão

Os derivados do ácido galoilquinico (DAGQ) das folhas de *B. fagifolia* (100 g) foram inicialmente extraídos a partir de uma infusão (10% m/v). O infuso obtido foi particionado entre H_2O/AcOEt (1:1 v/v). As camadas orgânica e aquosa foram separadas e secas (7,2 g e 6,6 g). A partir de uma alíquota da porção aquosa, que concentra os DAGQ, o método de separação por HPLC analítico foi otimizado. Diante da complexidade da matriz, um fracionamento prévio foi realizado em Sephadex LH-20 com MeOH 80%. As frações obtidas, depois de reagrupadas de acordo com similaridade, foram analisadas por HPLC no método otimizado e a etapa de isolamento e purificação efetuados em modo semi-preparativo. O estabelecimento do fluxo usado no modo semi-preparativo foi baseado nas características das colunas, sendo a analítica de dimensões de 250 x 4,6 mm; d.i. e a semi-preparativa de 250 x 10 mm; d.i. Desta forma, o fator de transposição linear (*scale-up*) foi obtido pela razão de suas áreas secionais[2].

$$Fator\,de\,transposição = \frac{\pi\, r^2_{coluna\,preparativa}}{\pi\, r^2_{coluna\,analítica}} = \frac{r^2_{coluna\,preparativa}}{r^2_{coluna\,analítica}}$$

O gradiente empregado, com fluxo de 1 mL min^{-1}, viabilizou a separação de uma série de substâncias distribuídas em um intervalo de aproximadamente 35 min (Fig. 1a). Com a aplicação do fator de transposição encontrado (4,7), foi possível chegar a uma separação semi-preparativa equivalente àquela obtida em escala analítica (Fig. 1b).

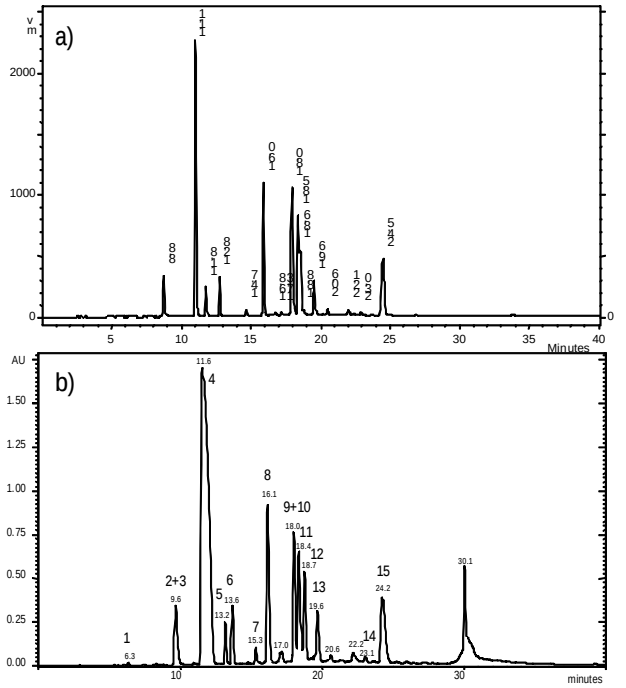

Figura 1. a) separação em escala analítica, 1 mL min^{-1}, **b**) separação em escala analítica, fluxo 4,7 mL min^{-1}. FM: ACN+TFA 0,1% e H_2O+TFA 0,1%. Colunas: Phenomenex® Synergi Hydro.

Conclusões

A estratégia empregada viabilizou o isolamento preliminar de 14 DAGQ, os quais foram caracterizados com o auxílio de técnicas espectroscópicas e cromatográficas e em quantidades significativas para posterior execução de ensaios farmacológicos.

Agradecimentos

Biota/Fapesp.

[1] Lima, Z. P., Dos Santos, R. C., Torres, T. U., Sannomiya, M., Rodrigues, C. M., Hiruma-Lima, C. A. *J. Ethnopharmacol.* **2008**, *120*, 149.

[2] Majors, R. E. *The Magazine of Separation Science-LC*GC*, **2004**, *7*, 8.