

## Otimização de condições preparativas em CLAE-C18 para purificação de casearinas de *Casearia sylvestris*.

Fernando Passareli<sup>1</sup> (PG)\*, Andrea Nastri de Luca Batista<sup>1</sup> (PQ), Alberto J. Cavaleiro<sup>1</sup> (PQ)

ferpassareli@iq.unesp.br

<sup>1</sup>Instituto de Química – UNESP – R. Francisco Degni s/n – Araraquara – SP.

Palavras Chave: CLAE-C18, cromatografia preparativa, *Casearia sylvestris*, casearinas.

### Introdução

*Casearia sylvestris* (Salicaceae) é uma planta nativa do Brasil, conhecida popularmente como guaçatonga. As folhas foram estudadas extensamente por suas propriedades antiúlcera e antitumoral e extratos aquosos tem a capacidade de neutralização de venenos de serpente e de abelhas<sup>1</sup> além de atividade anti-plasmodial no tratamento de malária<sup>2</sup>.

Devido à grande importância pela ocorrência de substâncias de interesse, no caso as casearinas, torna-se interessante o desenvolvimento de método de purificação para obter substâncias com alto grau pureza do extrato de folhas de *C. sylvestris*. Desta forma, este trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de método em CLAE preparativo para a purificação de casearinas de *C. sylvestris*.

### Resultados e Discussão

A fração enriquecida em casearinas, obtida do extrato etanólico pelo método desenvolvido por Tininis e Santos<sup>3</sup>, foi submetida cromatografia em coluna, fornecendo 50 subfrações. A partir disso as subfrações foram analisadas por CCD e reunidas em 17. A subfração 9 (FA 9) foi escolhida para o desenvolvimento do método cromatográfico por possuir maior massa que as demais e por apresentar-se constituída praticamente só por casearinas, com predomínio da casearina U, conforme verificado por análise em CLAE-DAD.

A estratégia utilizada para o desenvolvimento do método em CLAE-C18 preparativo incluiu inicialmente a otimização da resolução, carga e volume de injeção em coluna analítica (250 x 4,6 mm, 5 µm) e posterior escalamento para coluna preparativa (250 x 22 mm, 10 µm). Utilizando eluição isocrática, a força de eluição foi estudada entre  $k' = 7-20$  para o último pico e para a composição da fase móvel foram avaliadas misturas binárias e ternárias de (H<sub>2</sub>O), metanol (MeOH) e acetonitrila (ACN), utilizando planejamento fatorial ternário. A superfície de resposta obtida (figura 1) indicou melhor resolução para a FM ternária H<sub>2</sub>O/MeOH/ACN 30:50:20 (v/v). Ainda em coluna analítica, foram definidos o volume máximo de injeção (0,08 mL), carga por

injeção (0,56 mg) e vazão (1,6 mL.min<sup>-1</sup>). Assim, utilizando fator de escalamento de 21,2, obtivemos os valores correspondentes para a coluna preparativa: volume máximo de injeção (1,7 mL), carga por injeção (11,9 mg) e vazão (33 mL.min<sup>-1</sup>). Os cromatogramas analíticos e preparativos obtidos (Figura 2) demonstram a adequada transferência de escala (analítica – preparativa).

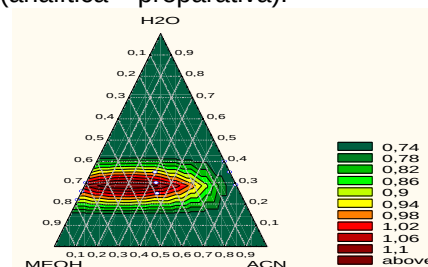


Figura 1. Diagrama ternário utilizado na otimização da resolução cromatográfica

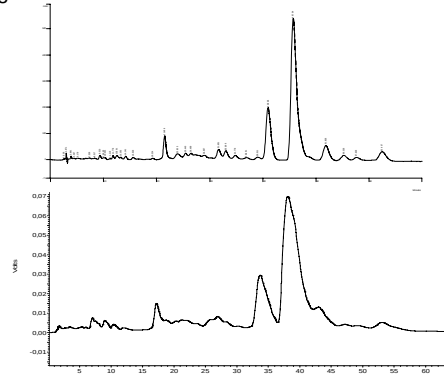


Figura 2. CLAE-C18 analítico (acima) e preparativo (abaixo).

### Conclusões

Sendo o desenvolvimento de método cromatográfico uma etapa importante para a purificação de metabólitos secundários de plantas, o método desenvolvido tem grande potencial para a purificação de casearinas de *C. sylvestris*.

### Agradecimentos

FAPESP e CAPES pela bolsa de mestrado.

<sup>1</sup>Yamashita C.I., Saiki M., Vasconcellos M.B.A., Sertié J.A.A. Applied Radiation and Isotopes, v 63, 841–846, 2005.

<sup>2</sup>Mesquita M.L., Grellier P., Mambu L., Paula J.E., Espindola L.S. J. of Ethnopharmacology, v 110, 165–170, 2007

<sup>3</sup>Tininis, A. G. Tese. Instituto de Química - UNESP, Araraquara, 2006; Santos, A. G. 2008. Tese. Instituto de Química – UNESP, Araraquara, 2008.