

Estudo dos parâmetros cromatográficos para isolamento não-empírico por CLAE de campferitrina presente nas folhas de *Uncaria guianensis*

Rodolfo S. Barboza^{1*} (IC), José L. Mazzei² (PQ), Ligia M. M. Valente¹ (PQ), Antonio C. Siani³ (PQ)

¹Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Av. Athos da Silveira Ramos, 149, C. T., Bl. A, Rio de Janeiro, RJ; *rodolfo-sb@hotmail.com; ²Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, RJ; ³Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Tecnologia em Fármacos, RJ

Palavras Chave: *Uncaria guianensis*, Rubiaceae, campferitrina, flavonóides, cromatografia

Introdução

O extrato etanólico das folhas de *Uncaria guianensis* (Rubiaceae) possui uma significativa atividade antiinflamatória e antialérgica¹ e contém cerca de 6% do flavonóide glicosilado campferitrina (campferol-3,7-O-(α -dirramnosídeo),^{2,3} com comprovadas propriedades antiinflamatória, hipoglicemiante, antioxidante e hipotensora,^{4,5} além de outros flavonóides minoritários. Por suas propriedades e seu potencial como marcador químico das espécies *Bauhinia forficata*⁵ e *U. guianensis*,^{2,3} a disponibilidade desse flavonóide para uso tanto como substância de referência em métodos analíticos como para testes farmacológicos complementares é de grande importância. Substâncias naturais com valor comercial cujas sínteses são economicamente inviáveis ou não disponíveis têm sido obtidas por isolamento em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) em larga escala. A transposição direta da escala analítica para semi-preparativa requer otimizações da vazão, da quantidade injetada ou do comprimento da coluna, não prevendo a eficiência de separação, quando então se recorre ao empirismo. Tais limitações, porém, não são encontradas na transposição usando modelos, que são vantajosos pela aplicação de poucos experimentos para a determinação dos parâmetros cromatográficos⁶.

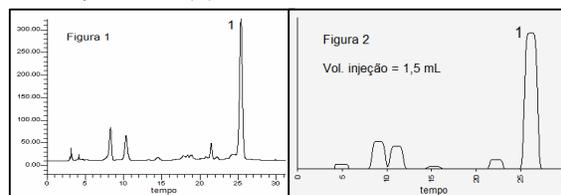
O presente trabalho tem por objetivo a aplicação da transposição de escala por modelos de momentos estatísticos no isolamento cromatográfico semi-preparativo de campferitrina e outros flavonóides presentes no extrato etanólico das folhas de *U. guianensis*.

Resultados e Discussão

Uma fração enriquecida em flavonóides obtida na partição entre n-hexano/metanol:água (9:1) do extrato etanólico das folhas de *U. guianensis* foi analisada em triplicata em fase LiChrospher RP18 (5 μ m, 250 x 4,6 mm) à temperatura ambiente com vazão de 1,4 mL/min de acetonitrila (ACN)-água, primeiramente em condições já descritas² e após em condições isocráticas: 10, 15, 16, 17, 18, 19, 20 e 25% ACN. A detecção foi acompanhada a 265 e 280 nm. Analisou-se nas mesmas condições, campferitrina isolada anteriormente.²

Com a análise dos cromatogramas gerados nas condições isocráticas pode-se perceber uma forte dependência do tempo de retenção dos compostos

em função da composição volumétrica da fase móvel, mostrando que em uma pequena variação (15 para 20% ACN) passa-se de uma elevada resolução para uma condição de co-eluição. Tal dependência levou ao desenvolvimento de um gradiente por etapas (12 min a 10% ACN e mais 18 min a 18%) para a separação semi-preparativa com tempo de corrida < 30 min e com melhor resolução (Figura 1). Os parâmetros cromatográficos dos compostos presentes foram determinados: tempo de retenção, largura à meia altura, fator de capacidade e altura reduzida de prato teórico. Separações semi-preparativas foram simuladas pelos modelos de momento estatístico para diferentes volumes de injeção, como mostrado no cromatograma para 1,5 mL de injeção (Figura 2). Pode-se observar o tempo de corrida relativamente curto e a boa separação entre os sinais de menor retenção. Os resultados mostraram ainda que com uma injeção de até 3 mL de uma solução de concentração igual a 1 g.L⁻¹, é possível a separação de campferitrina (1).



Conclusões

A partir dos parâmetros estimados da condição otimizada em gradiente por etapas foi possível planejar o isolamento da campferitrina e de componentes minoritários da fração enriquecida em flavonóides de *U. guianensis*. O perfil cromatográfico em escala semi-preparativa foi estimado usando os modelos de momentos estatísticos, permitindo o planejamento da separação para diferentes sobrecargas de volume de injeção, permitindo estimar o volume sem sobreposição de sinais.

Agradecimentos

FAPERJ, CNPq

¹Carvalho, M.V.; Penido, C. et al. *Inflammopharmacology* **2006**, *14*, 48.

²Valente, L.M.M.; Bizarri, C.H. et al. *J. Braz. Chem. Soc.* **2009**, *20*, 1041.

³Paixão, D. Tese MSc. IQ-UFRJ, 2010.

⁴Fang, S.H.; Rao, I.K. et al. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 2381.

⁵Sousa, E.; Zanatta, L. et al. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 829.

⁶Mazzei, J.L.; d'Avila, L.A. *J. Liq. Chrom. Rel. Technol.* **2003**, *26*, 177.