

Isolamento semi-preparativo por Extração em Fase Sólida (EFS) de campferitrina presente nas folhas de *Uncaria guianensis*

Rodolfo S. Barboza^{1*} (PG), 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 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 polifenóis minoritários. Por suas propriedades e seu potencial como marcador químico das espécies *Bauhinia forficata*⁵ e *U. guianensis*,^{2,3} é importante a disponibilidade de campferitrina, tanto como substância de referência em métodos analíticos como para testes farmacológicos complementares. Além disso, o isolamento dos polifenóis minoritários sem dúvida amplia o conhecimento da constituição química dessa espécie medicinal.

O presente trabalho tem por objetivo o desenvolvimento de um método de isolamento semi-preparativo por extração em fase sólida (EFS) de campferitrina e dos outros polifenóis minoritários presentes no extrato etanólico das folhas de *U. guianensis*. O uso da técnica de EFS é bem difundido para escala analítica⁶ sendo, no entanto ainda incipiente para uso em escala semi-preparativa. A avaliação da pureza e a recuperação dos compostos estudados foram realizadas por cromatografia em camada delgada (CCD) acoplada à densitometria.

Resultados e Discussão

A fração hidrometanólica, enriquecida em flavonóides, obtida da partição entre *n*-hexano/MeOH:H₂O (9:1) do extrato EtOH das folhas de *U. guianensis* foi analisada em CLAE-UV, coluna Inertsil Prep-ODS (250 x 6 mm, 10 mm), temp. ambiente, vazão de 1,4 mL/min de ACN-H₂O, em modos isocráticos: 10, 15-20 e 25% ACN e detecção a 265 e 280 nm. A análise dos cromatogramas gerados mostrou uma forte dependência do tempo de retenção dos compostos presentes em função da composição volumétrica da fase móvel, indo desde uma condição de alta resolução (em ACN15%), até uma de co-eluição (em ACN20%). Os resultados obtidos foram então utilizados no estudo dos efeitos das variáveis operacionais em EFS: volume de eluição e composição de fase móvel, visando o isolamento das substâncias-alvo.

O estudo em EFS foi realizado em cartuchos RP18 (Agilent), 500 mg, 3 mL, 45 μ m, aplicando-se 1 mL

de solução 3 mg/mL em ACN/H₂O (composição variando de acordo com cada experimento), da fração hidrometanólica em estudo. A vazão das eluições ficou entre 3 e 4,5 mL/min. Primeiramente avaliou-se a dependência de eluição dos componentes em função do volume de eluição e composição da fase ACN/H₂O. Tendo-se então fixado o volume (3 mL) e a faixa ótima de composição de fase (10-20% de ACN), estudou-se a variação da composição de fase (em intervalos de 1% de ACN) dentro da faixa encontrada. A composição percentual dos componentes presentes nos eluatos foi determinada por densitometria das bandas obtidas em CCD utilizando-se o programa *ImageJ 1.4*. Os resultados obtidos levaram ao desenvolvimento de uma metodologia de isolamento de campferitrina com elevado grau de pureza (>99%) e boa recuperação (60%) e à obtenção de frações enriquecidas nos polifenóis minoritários. A metodologia foi então realizada com maiores cargas de amostra (5 e 10 mg) no mesmo de tamanho de cartucho. A análise densitométrica mostrou que os resultados foram compatíveis até 5 mg de carga.

Estes resultados foram corroborados por CLAE-UV, em modo gradiente, utilizando-se condições otimizadas a partir dos dados obtidos nos modos isocráticos.

Conclusões

Nesse trabalho foi possível desenvolver o isolamento semi-preparativo em EFS de campferitrina e obter frações enriquecidas em polifenóis minoritários presentes nas folhas de *U. guianensis*. Os resultados obtidos mostraram que para quantidades de amostra de até 5 mg/cartucho-500 mg foi possível a obtenção de campferitrina com elevado grau de pureza segundo CCD-densitometria e CLAE-UV.

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.

⁶Lanças, F.M. *Extração em Fase Sólida*. RiMa, São Carlos-SP, 2004.