

## Utilização de sistema automatizado ASE na extração e no fracionamento biomonitorado de extratos de espécies de *Piper*

Thiago R. Morais (PG)<sup>1</sup>,\* Bianca J. Novais (IC)<sup>1</sup>, Natalia Girola (PG)<sup>2</sup>, Carlos R. Figueiredo (PG)<sup>2</sup>, Guilherme M. Antar (PG)<sup>3</sup>, Patricia Sartorelli (PQ)<sup>1</sup>, João Henrique G. Lago (PQ)<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas, Universidade Federal de São Paulo - SP. <sup>2</sup>Departamento de Micro, Imuno e Parasitologia, Universidade Federal de São Paulo – SP. <sup>3</sup>Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo – SP. E-mail: thiago\_rahal@hotmail.com

Palavras Chave: *Piper* sp., atividade citotóxica, atividade antiparasitária, Accelerated solvent extractor (ASE).

### Abstract

Use of automatize system (ASE) in extraction and bioactive-guided fractionation of extracts from *Piper* species. Extraction and bioactivity-guided fractionation of different *Piper* species using a new method based on accelerated solvent extractor (ASE) system is described. Using this procedure was possible purification of sesamin from cytotoxic (B16F10Nex2 cells) extract from leaves of *P. umbellatum*.

### Introdução

Diversos estudos comprovam importância medicinal de diversas espécies de *Piper*. Visando o isolamento de compostos ativos de plantas desse gênero, muitos estudos utilizam sucessivas etapas de fracionamento cromatográfico em coluna aberta, os quais, além de apresentarem baixa eficiência, empregam grandes quantidades de solventes.<sup>1</sup> Nesse sentido, esse trabalho visa o desenvolvimento de um método automatizado (Dionex ASE350) para extração e fracionamento biomonitorado de extratos de *Piper* sp.

### Materiais e Métodos

Nos processos de extração e fracionamento dos extratos de *Piper* sp. foi utilizado um sistema ASE™ 350 (Dionex, Sunnyvale, CA). Os diferentes tecidos vegetais foram secados a 45°C, triturados e submetidos à extração exaustiva com hexano e com MeOH fazendo uso do sistema automatizado. Após extração, os extratos brutos foram avaliados quanto ao potencial citotóxico (frente a linhagens B16F10Nex 2 – melanoma murino). Em seguida, os extratos bioativos foram impregnados em sílica-gel (230 – 400 mesh) para a formação de pastilhas, as quais foram acondicionadas em celas de aço inox de 100 mL com seu volume preenchido com em um total de 40 g de fase estacionária para cada 1 g de extrato. Para o fracionamento, foram utilizadas misturas de hexano:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH em ordem crescente de polaridade de modo a se obter 12 frações. As condições para extração e fracionamento foram: pré-aquecimento da cela a 30°C com tempo estático de 5 min a 10694kPa (1551psi) por dois ciclos e purga de 250s, utilizando N<sub>2</sub> como gás de arraste.

### Resultados e Discussão

Os extratos obtidos após a extração automatizada em sistema ASE estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Massas (g) dos extratos de *Piper* sp. (em negrito os extratos ativos)

	1	2	3	4	5	6
	<i>P. arboreum</i>	<i>P. solmsianum</i>	<i>P. cernuum</i>	<i>P. gaudichudianum</i>	<i>P. aduncum</i>	<i>P. umbellatum</i>
<b>Hexano</b>						
Folhas (HF)	0,78	2,29	1,18	1,00	4,74	8,53
Galhos (HG)	0,10	0,16	0,30	0,18	1,28	1,80
<b>MeOH</b>						
Folhas (MF)	2,67	<b>4,83</b>	<b>3,93</b>	2,91	2,50	<b>8,40</b>
Galhos (MG)	0,89	2,61	2,29	0,99	0,60	3,35

Após avaliação da citotóxica, os extratos **MF2 – MF6** mostram potencial (viabilidade celular < 30% a 100 µg/mL), sendo o extrato MeOH das folhas de *P. umbellatum* (MF-6) aquele que apresentou maior potencial (5% de viabilidade celular a 100 µg/mL). Para aplicação do método de fracionamento no sistema ASE, parte desse extrato (2,25 g) foi submetida à separação (ver Material e Métodos) cuja atividade se mostrou concentrada na fração 6 (230 mg - eluída com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 100%), como mostrado na figura 1.

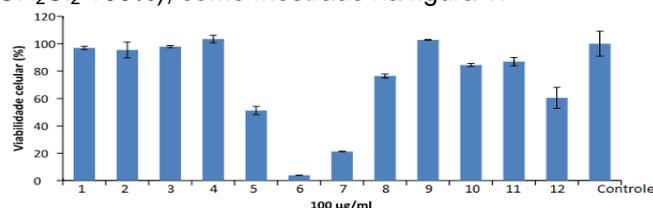


Figura 1. Viabilidade celular das frações obtidas do fracionamento do extrato MeOH de *P. umbellatum*.

A fração 6, bioativa, foi analisada RMN de <sup>1</sup>H e por EM sendo possível a identificação da lignana sesamina.

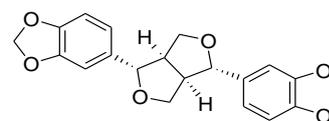


Figura 2. Estrutura da sesamina.

### Conclusões

O método utilizado apresenta maiores vantagens comparado ao método clássico de cromatografia em coluna, visto que o consumo de solvente e tempo de eluição são consideravelmente reduzidos. Esta abordagem permitiu um fracionamento mais eficiente possibilitando, em uma única etapa, a purificação da sesamina metabólito responsável pela atividade citotóxica mostrada pelo extrato MeOH das folhas de *P. umbellatum*.

### Agradecimentos

CAPES e FAPESP

<sup>1</sup> Danelutte, A. P. et al. *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, *16*, 1425-1430.