



República Federativa do Brasil  
Ministério do Desenvolvimento, Indústria  
e do Comércio Exterior  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) (21) **PI 0501510-3 A**



(22) Data de Depósito: 22/04/2005  
(43) Data de Publicação: 12/12/2006  
(RPI 1875)

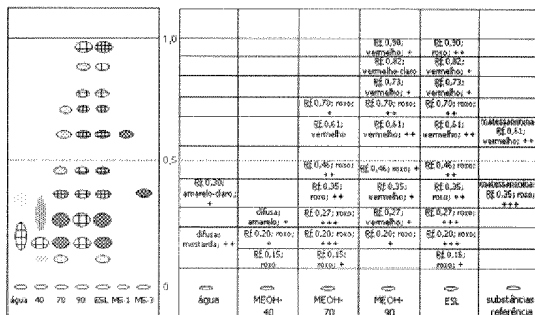
(51) Int. Cl<sup>7</sup>.:  
A61K 35/78

(54) Título: **PROCESSO DE OBTENÇÃO DE FRAÇÃO PURIFICADA DE SUBSTÂNCIAS SAPONOSÍDICAS E USO DE SUBSTÂNCIAS SAPONOSÍDICAS**

(71) Depositante(s): Universidade Federal do Rio Grande do Sul (BR/RS)

(72) Inventor(es): George Gonzalez Ortega, Cabral Pavei, Pedro Ros Petrovick, Valquíria Linck Bassani

(57) Resumo: "PROCESSO DE OBTENÇÃO DE FRAÇÃO PURIFICADA DE SUBSTÂNCIAS SAPONOSÍDICAS E USO DE SUBSTÂNCIAS SAPONOSÍDICAS". A presente invenção descreve um processo de obtenção de uma fração enriquecida de substâncias saponosídicas a partir de extratos vegetais de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. (erva-mate), mediante purificação em fase sólida, utilizando resina de poliestireno, sendo também descritos métodos analíticos aplicados à caracterização e padronização das frações saponosídicas. O processo da presente invenção tem como vantagens escasso risco com solventes orgânicos, exclui o emprego de solventes clorados, minimiza o impacto ambiental; é barato, rápido e reprodutível, com poucas variáveis de processo, o que torna fácil a sua transposição de escala.



Nota: + = fraca, ++ = média, +++ = intensa

## Relatório Descritivo

Processo de obtenção de fração purificada de substâncias saponosídicas e  
Uso de substâncias saponosídicas

5

### Campo da Invenção

A presente invenção se refere genericamente a processos de obtenção de uma fração saponosídica purificada de *Ilex paraguariensis* (erva-mate) a partir de extratos vegetais dessa espécie. Mais especificamente, refere-se a processo de purificação mediante extração em fase sólida com resina adsorvente.

### Antecedentes da Invenção

A padronização de extratos vegetais na forma de frações purificadas de marcadores químicos ativos está amplamente descrita na literatura. Diversos processos de obtenção de frações purificadas são mantidos sob proteção de patentes (BOMBARDELLI, 2003; TIERRA, 1999). Para a obtenção de frações saponosídicas padronizadas, afora o tradicional fracionamento líquido-líquido (ENDALE e col., 2004), as técnicas analíticas que tem demonstrado destaque são a cromatografia líquida de alta e média pressão e a extração em fase sólida. Nesta última, se empregam suportes sólidos com diferentes mecanismos de separação, que promovem menores gastos e riscos com solventes, associados a uma maior eficiência e à possibilidade de aplicação em processos em larga escala (ARNTZEN e col., 2002).

Nas primeiras etapas do desenvolvimento da presente invenção foram testadas resinas de troca iônica, de natureza aniônica, cuja aplicação na obtenção de frações ricas em saponinas está documentada através de vários trabalhos publicados (DALSGAARD, 1973; WOLF e THOMAS, 1971). Para isso, foi utilizado o extrato seco liofilizado dos frutos de *Ilex paraguariensis*. Ainda que diferentes ácidos e gradientes de eluição tenham sido empregados, não foi possível obter uma separação satisfatória da fração saponosídica dos

demais grupos de substâncias presentes no extrato. Foram ainda observadas alterações nos perfis cromatográficos das frações, o que sugere degradação ou formação de artefatos durante o processo, conforme revelou a monitoração por cromatografia em camada delgada (CCD) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Parte dos obstáculos encontrados esteve relacionada à complexa composição da solução extrativa e à concentração de ácido exigida para eluir de forma apropriada os compostos de interesse da coluna de separação.

Em face disso, direcionaram-se os estudos à utilização de uma resina adsorvente polimérica, de alta porosidade, com matriz de poliestireno, registrada sob nome comercial Diaion<sup>®</sup> HP-20. Esta resina tem apresentado resultados satisfatórios na obtenção de frações purificadas de saponinas diretamente de extratos brutos, especialmente em espécies vegetais de origem oriental (LARINA e col., 2000; SUNG e col., 2000; UEMATSU e col., 2000; KIM e col., 1998).

### **Sumário da invenção**

Tendo em vista as limitações do estado da técnica e as peculiaridades da invenção, é um objeto desta invenção a obtenção de uma fração purificada rica em saponinas de *Ilex paraguariensis* (erva-mate), a partir de extratos vegetais dessa espécie.

Em um outro aspecto da presente invenção, propõe-se a obtenção de uma fração purificada de saponinas de erva-mate, independentemente da forma de obtenção da solução extrativa desta espécie e/ou da composição do líquido extrator utilizado para esse propósito.

Um objeto adicional da presente invenção deve-se ao uso farmacológico, terapêutico e tecnológico da fração purificada, nas áreas das ciências da saúde, ciências farmacêuticas, da química e da físico-química, seja como fármaco, adjuvante tecnológico ou produto de diagnóstico.

Ainda como um outro objeto da presente invenção, provê-se o uso de resinas de natureza química similar à utilizada e a qualquer outro sistema de

eluição utilizado com estas resinas, para obtenção de frações purificadas de saponinas de erva-mate.

### **Breve Descrição das Figuras**

5            Figura 1 - Características visuais das frações obtidas pela resina Diaion® HP-20 a partir do extrato seco liofilizado dos frutos de *Ilex paraguariensis*

              Figura 2 – Representação esquemática do cromatograma comparativo das frações obtidas no fracionamento preliminar do extrato seco liofilizado dos frutos de *Ilex paraguariensis*. Utiliza-se o sistema cromatográfico: 10 clorofórmio:etanol:água (40:40:5, v/v), gel de sílica GF<sub>254</sub>, revelação: reagente anisaldeído-sulfúrico seguido de aquecimento, visualização: UV em 365nm.

              Figura 3 - Perfis cromatográficos comparativos das frações obtidas pela resina Diaion® HP-20 no fracionamento preliminar do extrato seco liofilizado dos frutos de *Ilex paraguariensis* em 205nm. 15

              Figura 4 - Representação esquemática do cromatograma comparativo das frações obtidas pelo sistema SDIV. Sistema cromatográfico: clorofórmio:etanol: água (40:40:5, v/v), gel de sílica GF<sub>254</sub>, revelação: reagente anisaldeído-sulfúrico seguido de aquecimento, visualização: UV em 365nm.

20            Figura 5 - Perfil cromatográfico das frações MEOH-20 (A) e MEOH-50 (B) em 205nm.

              Figura 6 - Perfil cromatográfico da fração MEOH-20 (A) em 275 nm e da fração MEOH-50 em 275nm (B) e em 325nm (C).

              Figura 7 - Perfil cromatográfico das frações MEOH-70 (A) e MEOH- 25 90 (B) do sistema SDIV em 205nm.

              Figura 8 - Perfil cromatográfico das frações MEOH-70 (A) e MEOH-90 (B) do sistema SDIV em 275nm.

              Figura 9 - Perfil cromatográfico das frações MEOH-70 (A) e MEOH-90 (B) do sistema SDIV em 325nm.

30            Figura 10 - Perfil de eluição das saponinas presentes nos frutos de *Ilex paraguariensis* através da resina Diaion® HP-20.

Figura 11 - Perfil cromatográfico obtido para a fração MEOH-90 a partir da modificação na fase móvel empregada no método por CLAE em 205nm.

Figura 12 - Perfil cromatográfico obtido para a fração MEOH-90 a partir da modificação na fase móvel empregada no método por CLAE em 275nm (A), 325nm (B) e 360nm (C).

### **Descrição Detalhada da Invenção**

Atualmente diversas propriedades biológicas, farmacológicas e terapêuticas têm sido associadas às saponinas, que estão presentes em espécies vegetais, destacando atividades sobre as paredes celulares, hemolítica, ictiotóxica, molusquicida, espermicida, anti-helmíntica, hipocolesterolemia (incluindo redução do colesterol e de triglicerídeos no sangue e tecidos), inibição da difusão passiva de ácido cólico, anti-inflamatória, antiviral.

Alguns medicamentos já incluem saponinas como expectorante e diurética, promotor de absorção e imunoadjuvante.

No âmbito cosmético e químico, as saponinas são utilizadas pela suas propriedades tensoativas na preparação de produtos cosméticos e químicos.

Neste contexto, nos últimos anos observa-se um significativo acréscimo no leque de propriedades analisadas, devido principalmente, à constatação de promissoras atividades, dentre as quais se destacam o uso como imunoadjuvantes, antivirais e como promotores da absorção de fármacos, suas propriedades tensoativas e espumógena, entres outras.

A fim de orientar os testes da presente invenção, trabalhou-se com uma resina adsorvente polimérica, de alta porosidade, com matriz de poliestireno, mais conhecida pelo nome comercial Diaion<sup>®</sup> HP-20<sup>a</sup>.

### **Método de preparação do extrato para fracionamento**

O material vegetal foi extraído por turboextração com mistura hidroalcoólica e posteriormente liofilizado. As amostras foram preparadas pela

dissolução de 100,0 e 200,0mg do extrato seco liofilizado em 100,0 ml de água, com auxílio de agitador magnético, durante 60 minutos.

#### Descrição da técnica

Aproximadamente 30,0 g da resina Diaion<sup>®</sup> HP-20 foram transferidos para copo béquer de 500,0ml e tratados, durante 24 horas, com 100,0ml de metanol, sob agitação ocasional. O material foi acondicionado em coluna de vidro (600 x 10 mm, d.i.), gerando uma coluna de aproximadamente 15cm de resina, e lavado, sucessivamente, com 100,0ml de metanol e 200,0ml de água, empregando fluxo de 5,0ml/min. Em seguida, verteu-se, cuidadosamente, no topo da coluna o extrato para fracionamento, reduzindo o fluxo para 1,0 a 2,0ml/min, que foi utilizado durante todo o experimento (5 volumes de leite/hora).

Os sistemas de eluição testados para resina Diaion<sup>®</sup> HP-20 (SD) consistiram de água e metanol em regime de eluição gradiente linear, por ordem decrescente de polaridade, empregando 200,0ml de cada solvente, conforme detalhado na Tabela 1.

**Tabela 1.** Gradientes de eluição testados na obtenção de frações ricas em saponinas no extrato seco liofilizado dos frutos de *Ilex paraguariensis* empregando a resina Diaion<sup>®</sup> HP-20.

Sistema	Gradiente de eluição									
	Água	Metanol (MEOH %) (v/v)								
		10	20	30	40	50	60	70	80	90
SDI	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Presente	Presente	Presente	Presente
SDII	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Presente
SDIII	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
SDIV	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Presente
SDV	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Presente

As frações com volume médio de 100 ml, depois de retirada alíquota para análise por CCD, foram armazenadas em frascos âmbar de 100,0ml, previamente tarados, sendo aquelas que continham metanol concentradas para remoção do conteúdo alcoólico, em evaporador rotatório em temperatura não superior a 40°C. Os frascos foram cobertos com papel filtro, congelados e liofilizados empregando as mesmas condições descritas anteriormente. Depois de liofilizadas, acondicionaram-se as frações em dessecador provido de sílica, para posterior análise. Foram definidos como critérios de escolha o rendimento e a pureza das frações obtidas nos fracionamentos testados.

#### 10 Caracterização das frações

##### 1. Determinação do pH (F. Bras. IV, 1988)

Foram realizadas as determinações em diversas etapas durante o desenvolver da técnica. Avaliou-se o pH da resina livre, de cada um dos eluentes e das frações obtidas.

#### 15 Avaliação dos aspectos macroscópicos

Foram determinadas através da observação da cor e características gerais das frações durante a retirada da coluna, concentração e após a liofilização.

#### 20 Monitoramento, caracterização e quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência.

As frações liofilizadas foram pesadas e, para análise por CLAE, diluídas em acetonitrila:água (27:75 v/v), de modo a resultarem em concentrações teóricas finais próximas a 2,0mg/ml. Os resultados foram expressos considerando a área do pico codificado como 1, assim como o somatório das áreas integradas de todos os picos previamente caracterizados como sendo saponinas.

#### Fracionamento e purificação da fração saponosídica presente no extrato seco liofilizado

O mecanismo de separação baseia-se, principalmente, na retenção da substância na superfície da resina por interações de van der Waals, onde a capacidade ligante é determinada pela hidrofobia relativa entre as substâncias

presentes no extrato, as características dos solventes de eluição empregados e dos grupos funcionais que compõem o material adsorvente (SHI e col., 2002). Autores sugerem que a inserção de pequenos grupamentos polares pode influenciar positivamente o processo de adsorção, por favorecer a molhabilidade da resina e a transferência (desorção) das saponinas para o eluente adequado (JIAN-BIAO e col., 1992).

Como eluente inicial se utiliza água, com o propósito de eliminar interferentes retidos por ligações mais fracas, como polissacarídeos, aminoácidos e substâncias altamente hidrossolúveis. Na seqüência são aplicados sistemas com graduação crescente de um líquido apolar, miscível com água em todas as proporções, tais como o metanol, através do qual são eluídos sais, ácidos orgânicos e compostos polifenólicos, como flavonóides e taninos, e, posteriormente, frações ricas em saponinas (UEMATSU e col., 2000; HOSTETTMANN e MARSTON, 1995; JIAN-BIAO e col., 1992).

Na presente invenção, optou-se por avaliar a utilização da resina Diaion® HP-20 em um processo de obtenção da fração saponosídica presente no extrato liofilizado de erva-mate (ESL), sem submetê-lo à prévia partição líquido-líquido, empregando inicialmente o sistema de eluição identificado como SDV, conforme indicado na Tabela 1.

As primeiras frações, eluídas com água e solução metanólica a 40 % (v/v), codificadas como MEOH-40, apresentaram colorações de marrom escuro a verde, sugerindo a presença nestas amostras de compostos corantes e fenólicos, além de outras substâncias interferentes presentes no ESL. Nas frações eluídas com soluções metanólicas a 70 e 90 % (v/v), codificadas, respectivamente, como MEOH-70 e MEOH-90, as amostras apresentaram ausência de cor (figura 1) sendo observada, durante a operação de concentração destas, uma acentuada produção de espuma.

Com o intuito de obter indícios sobre a variação na composição química das amostras obtidas e do efeito atribuído à coluna, foi realizado o controle do pH dos eluentes e das frações durante o desenvolvimento do processo de fracionamento. Na avaliação do pH dos eluentes, sem extrato, os



valores obtidos encontravam-se entre 6,0 e 8,0. Assim, na avaliação do pH dos eluentes com extrato os valores de pH mais ácidos foram registrados nas amostras eluídas com água e MEOH-40, conforme mostrado na Tabela 2.

- 5 **Tabela 2.** Resultados da determinação do pH das frações obtidas pela resina Diaion® HP-20 no fracionamento preliminar do extrato seco liofilizado.

Fração	pH; $\bar{X} \pm S$	CV (%)
Água	5,37 ± 0,04	0,72
MEOH-40	6,14 ± 0,02	0,34
MEOH-70	6,79 ± 0,06	0,88
MEOH-90	6,61 ± 0,07	1,06

$\bar{X}$ : valor médio; S: desvio padrão; CV (%): Coeficiente de variação percentual; n = 5.

- 10 Pela análise comparativa por CCD das frações, empregando o sistema cromatográfico para saponinas, pode-se visualizar uma diferenciação no perfil das manchas, à medida que o regime de eluição através da coluna é modificado. Nas frações MEOH-70 e MEOH-90 constata-se uma predominância das manchas referentes a saponinas, sendo que os perfis cromatográficos destas frações, no seu conjunto, reproduzem a análise de saponinas por CCD obtido para o ESL, indicando a desorção quase completa da resina e a preservação da composição química durante o processo de fracionamento (figura 2).

- 20 Corroborando com os resultados observados nas análises macroscópicas e na caracterização das amostras por CCD, a monitoração do processo de fracionamento que emprega o sistema cromatográfico por CLAE confirmou a retirada de compostos indesejados nas frações obtidas com água

e MEOH-40, fato evidenciado pelo número e intensidade nas absorções dos picos situados no início dos respectivos cromatogramas (figura 3).

No perfil cromatográfico da fração MEOH-40 pode-se verificar a presença dos picos referentes às saponinas mais polares no cromatograma dos frutos de *I. paraguariensis*, o que demonstra que o sistema de solventes utilizado causou a co-eluição de outros compostos de menor interesse com as saponinas que apresentaram igual comportamento cromatográfico que as substâncias codificadas como 2 e 3 no perfil por CLAE (figura 3)

Constata-se nas frações MEOH-70 e MEOH-90 uma nítida redução dos picos compreendidos entre 0 e 15 minutos (figura 3), de natureza não saponosídica, os quais são passíveis de detecção em comprimentos de onda superiores a 275nm. Ao mesmo tempo, os cromatogramas das frações MEOH-70 e MEOH-90 evidenciam o acúmulo das substâncias caracterizadas como saponinas, sendo que o perfil cromatográfico por CLAE destas frações, quando comparado com o perfil cromatográfico por CLAE ESL, não denota alteração da fração saponosídica, isto é, denota a ausência de degradação perceptível durante o processo de purificação.

A partir desses resultados preliminares, objetivando uma melhor exclusão dos compostos interferentes e a obtenção de frações saponosídicas com maior pureza e rendimento, desenvolveu-se estudo avaliando a influência de modificações no regime de eluição sobre as frações obtidas no processo de purificação através da resina Diaion<sup>®</sup> HP-20, o que levou a testar diferentes sistemas de eluição, conforme detalhado na Tabela 1. Nesse contexto, a análise comparativa dos fracionamentos enquanto rendimento, pureza das frações e reprodutibilidade na separação permitiu selecionar o sistema de eluição codificado como SDIV, como sendo o mais satisfatório para a purificação da fração saponosídica presente no ESL dos frutos de *I. paraguariensis*. O sistema identificado como SDIV caracteriza-se pelo emprego de um regime de eluição simples, promovendo, além de uma separação eficiente, um menor tempo despendido no processo, associado a menores gastos com solventes. Este sistema emprega, no gradiente de eluição, a

solução metanólica a 20 % (v/v), codificado como MEOH-20, que juntamente com a eluição promovida pela água e pelo metanol a 50 % (v/v), codificado como MEOH-50, visam reduzir a presença de compostos indesejados nas frações subseqüentes ricas em saponinas.

5 A caracterização dos aspectos macroscópicos das frações separadas com o sistema SDIV demonstrou, novamente, a presença de intensa coloração nas frações iniciais, eluídas, respectivamente, com água, MEOH-20 e MEOH-50. De forma semelhante, as referidas frações apresentaram menores valores de pH comparativamente às amostras eluídas  
10 com MEOH-70 e MEOH-90, o que foi atribuído à presença de polifenóis. Os resultados da determinação do pH constam na tabela 3.

**Tabela 3.** Resultados da determinação do pH das frações no fracionamento do extrato seco liofilizado obtidos com o sistema SDIV

Fração	pH; $\bar{X} \pm S$	CV (%)
Água	5,05 $\pm$ 0,08	1,58
MEOH-20	5,41 $\pm$ 0,07	1,29
MEOH-50	5,84 $\pm$ 0,04	0,68
MEOH-70	6,72 $\pm$ 0,08	1,19
MEOH-90	6,50 $\pm$ 0,03	0,46

15  $\bar{X}$ : valor médio; S: desvio padrão; CV (%): Coeficiente de variação percentual; n = 5.

Os perfis cromatográficos obtidos por CCD apresentaram manchas intensas, características de saponinas nas frações MEOH-70 e MEOH-90 (figura 4). Além dos indícios qualitativos do acúmulo de saponinas, estas  
20 frações demonstraram a preservação das manchas correspondentes à matessaponina-1 e à matessaponina-3 e das outras saponinas presentes no

ESL dos frutos de *I. paraguariensis*, o que indica a estabilidade da composição química de saponinas nas etapas de separação pela resina Diaion<sup>®</sup> HP-20.

A monitoração do processo de fracionamento e concomitante caracterização e quantificação por CLAE das frações obtidas pelo sistema SDIV reafirmam a presença, nas frações MEOH-20 e MEOH-50, de compostos que apresentam absorção em maiores comprimentos de onda e que provocam alterações nas análises cromatográficas realizadas na região de absorção de saponinas (figuras 5 e 6).

Verifica-se nas frações MEOH-70 e MEOH-90 uma reprodução do perfil cromatográfico obtido por CLAE para a matéria-prima vegetal e os produtos secundários dos frutos de *I. paraguariensis* no que tange aos picos caracterizados como saponinas (figura 7).

A eficiência na separação das frações saponosídicas pode ser constatada pela análise em maiores comprimentos de onda, nos quais a presença de substâncias passíveis de detecção é praticamente inexistente (figuras 8 e 9).

O rendimento no processo de purificação, considerando a massa de liofilizado obtida nas frações MEOH-70 e MEOH-90, representa aproximadamente 50% da massa do ESL inicialmente submetida ao processo de fracionamento. No que concerne ao teor de saponinas recuperado no processo de fracionamento, a figura 10 representa o perfil de eluição e o rendimento das saponinas do ESL através da resina Diaion<sup>®</sup> HP-20 em função do solvente de eluição utilizado, considerando nos cromatogramas das frações a área referente à saponina identificada como 1 e ao somatório das áreas dos picos caracterizados como saponinas e que ficam entre 15 e 60 minutos .

A análise das taxas de recuperação em termos de área do pico 1 em comparação com a área obtida no cromatograma do ESL apresentou valor de 92,8%, sendo que destes, aproximadamente, 73,7% encontram-se na fração MEOH-70. Para o somatório das áreas dos picos atribuídos às saponinas, a taxa de recuperação dos teores analisados comparativamente aos ESL correspondente, apresentou valores próximos a 97%, onde, aproximadamente,

71,6% e 19,5% estão presentes nas frações MEOH-70 e MEOH-90, respectivamente.

Objetivando uma melhor visualização da composição de saponinas presente na fração MEOH-90 do sistema SDIV, optou-se por modificar a fase móvel do sistema cromatográfico por CLAE até esta fase do trabalho utilizada na quantificação do teor de saponinas. Para isso, o teor percentual de acetonitrila foi aumentado para 30,4%, com proporcional redução no percentual de ácido *orto*-fosfórico, mantendo-se a eluição isocrática e prolongando o tempo de separação cromatográfica para noventa minutos. Este método, aplicado com a finalidade de caracterizar qualitativamente a composição da amostra não foi validado, razão pela qual qualquer inferência de teor foi considerada aproximada.

O cromatograma obtido para a fração MEOH-90 neste sistema cromatográfico na região de absorção de saponinas está representado na figura 11. Foi possível a modificação nas proporções dos eluentes utilizados no método por CLAE, devido à significativa redução nos tempos de retenção das substâncias presentes na fração MEOH-90 e à ausência, nesta fração, dos compostos que causam forte interferência no início da análise cromatográfica de saponinas no extrato bruto dos frutos de *I. paraguariensis*. A presença destes interferentes é passível de detecção em comprimentos de onda maiores (figura 12).

Pela análise qualitativa, os cromatogramas obtidos para a fração MEOH-90 demonstram a pureza obtida para a referida amostra no que concerne à composição de saponinas e confirmam a presença, nesta fração, das saponinas menos polares presentes no ESL (figura 11), as quais são visualizadas na análise por CCD e que, no presente método por CLAE, são atribuídas a alguns dos picos compreendidos entre 30 e 80 minutos.

Neste sistema de eluição por CLAE, a substância com características saponosídicas, convencionada no pico 1, e a substância de referência matessaponina-3 apresentaram tempos de retenção de, aproximadamente, oito e dezoito minutos, respectivamente. Estes intervalos evidenciam a pronunciada

alteração na separação cromatográfica de saponinas, à medida que pequenas modificações são efetuadas no regime de eluição da fase móvel, fato constatado durante o desenvolvimento do processo da presente invenção.



### Reivindicações

Processo de obtenção de fração purificada de substâncias saponosídicas e  
Uso de substâncias saponosídicas

- 5            1. Processo de obtenção de substâncias saponosídicas caracterizado por compreender o fracionamento de extratos vegetais em uma coluna contendo uma resina adsorvente polimérica com matriz de poliestireno.
2. Processo, conforme reivindicação 1, caracterizado por a fração obtida ser uma fração purificada de saponinas de *Ilex paraguariensis* (erva-mate).
- 10           3. Processo, conforme reivindicação 2, caracterizado por a obtenção da fração purificada independe da forma de obtenção da solução extrativa da referida espécie e/ou da composição do líquido extrator utilizado para esse propósito.
- 15           4. Uso de substância saponosídica caracterizado por ser aplicado em áreas das ciências da saúde, ciências farmacêuticas, alimentos, biologia, química e físico-química.
5. Uso, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado por ser em fármacos, adjuvantes tecnológicos, reagentes químicos ou substâncias de diagnóstico.
- 20           6. Uso, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado por a substância poder ser uma resina de natureza química similar.
7. Uso, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por ser adotado qualquer outro sistema de eluição próprio para as referidas resinas,
- 25           para obtenção de frações purificadas de saponinas de erva-mate.

Figuras

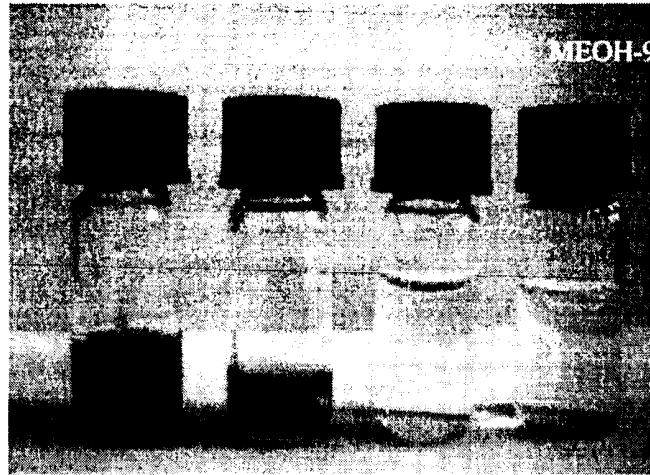
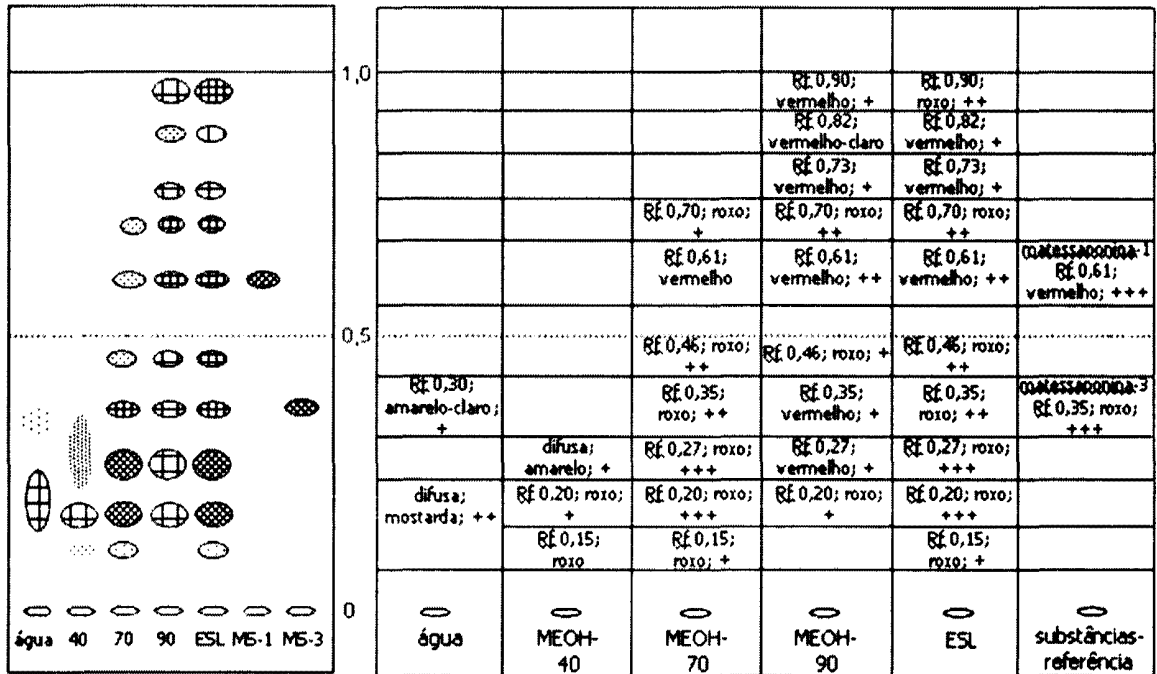


FIGURA 1



Nota: + = fraca; ++ = média; +++ = intensa

FIGURA 2



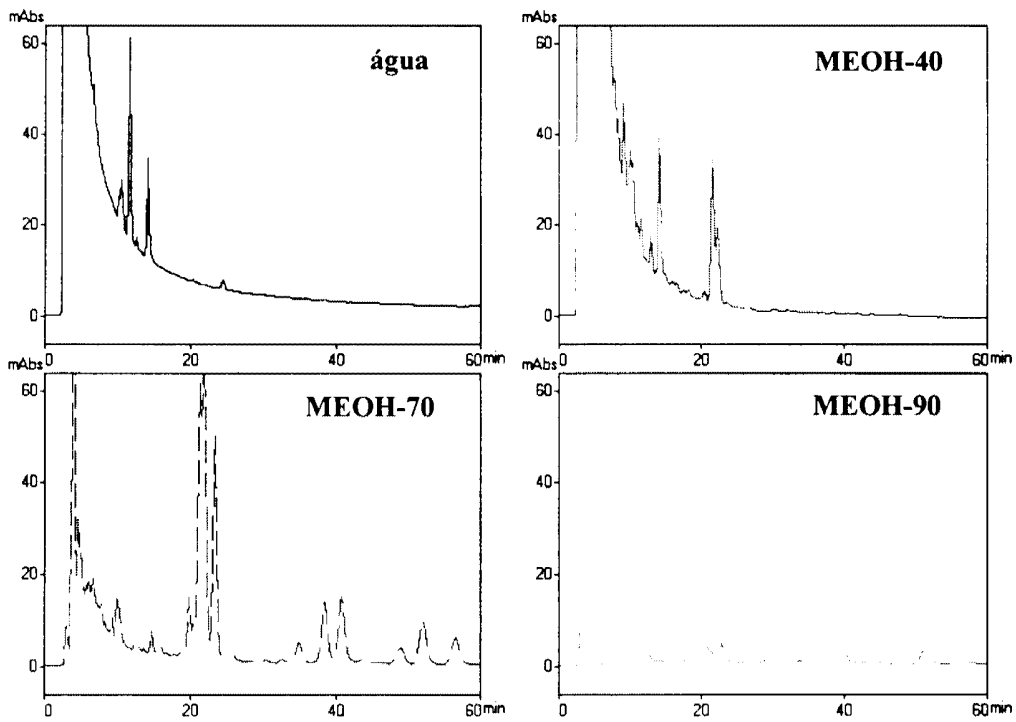
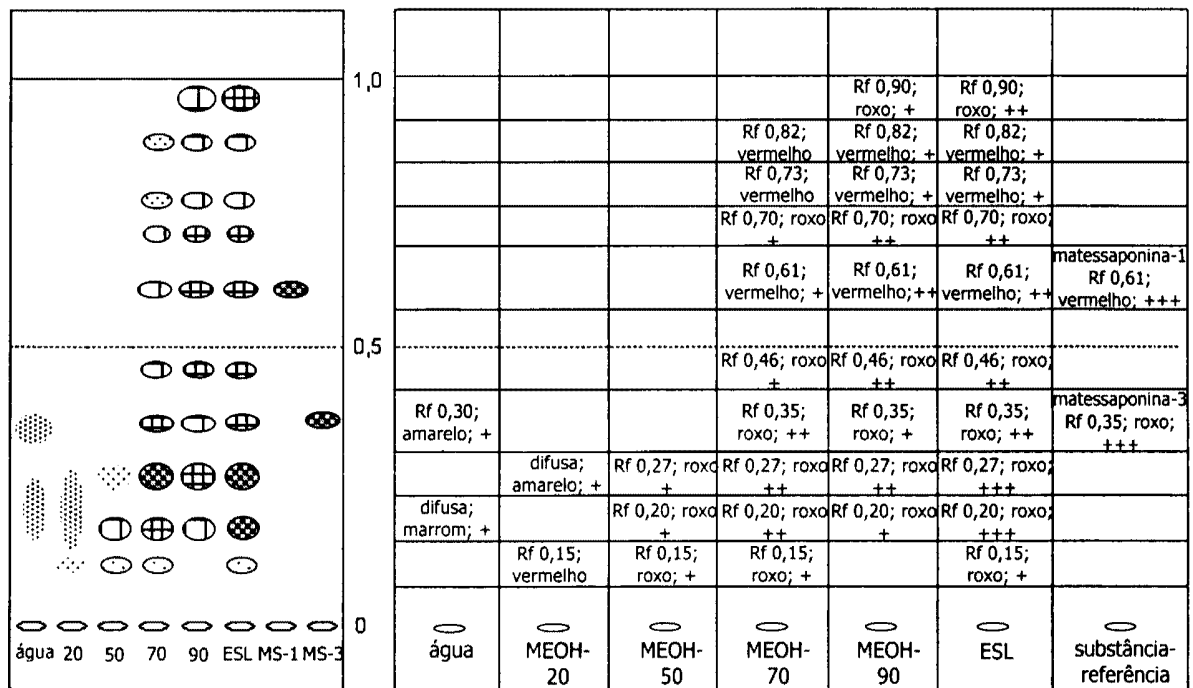


FIGURA 3



Nota: + = fraca; ++ = média; +++ = intensa

FIGURA 4

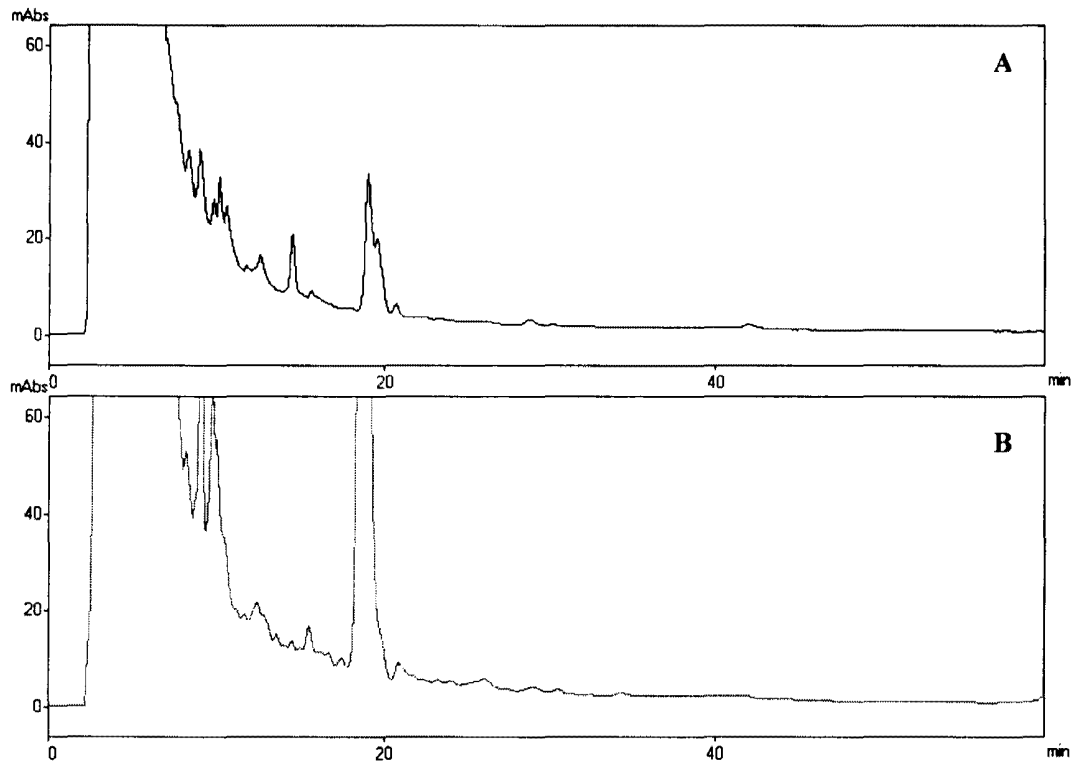


FIGURA 5

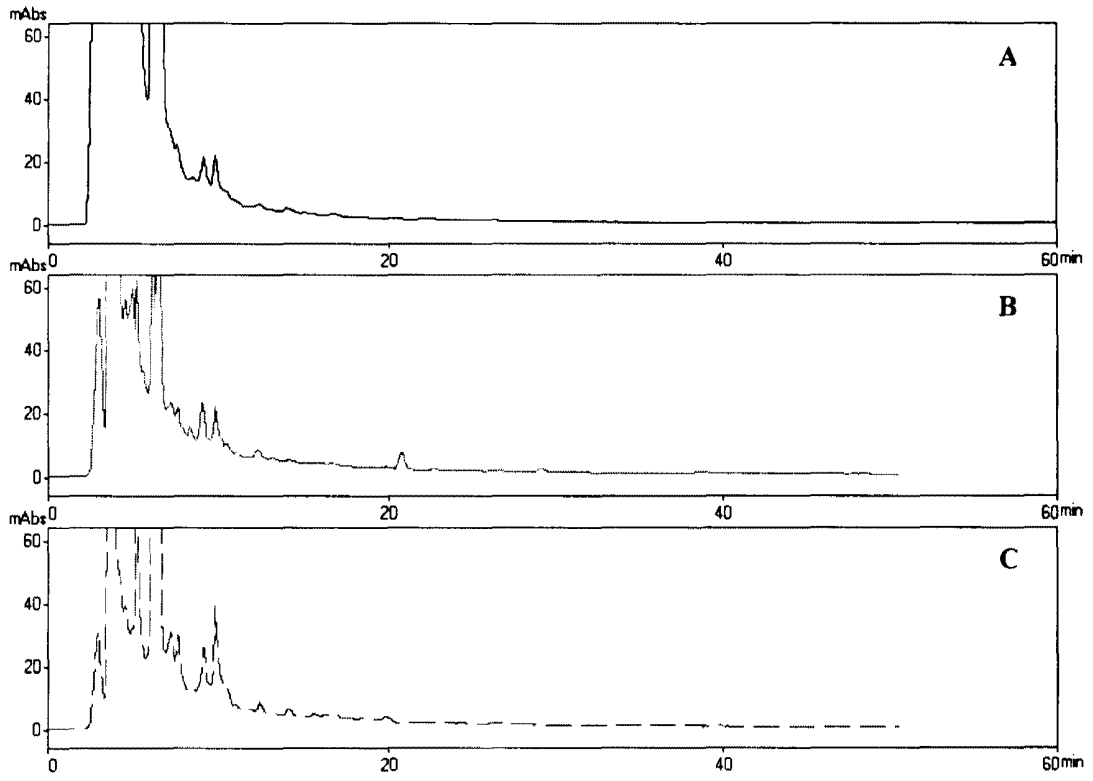


FIGURA 6

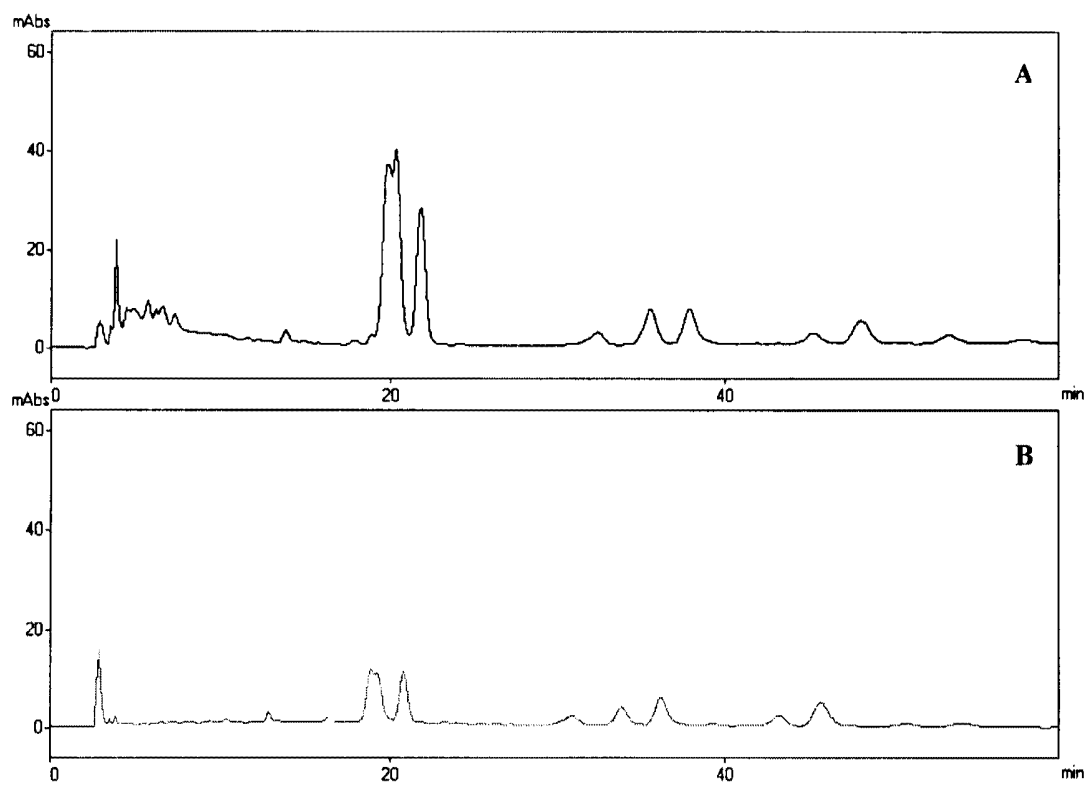


FIGURA 7

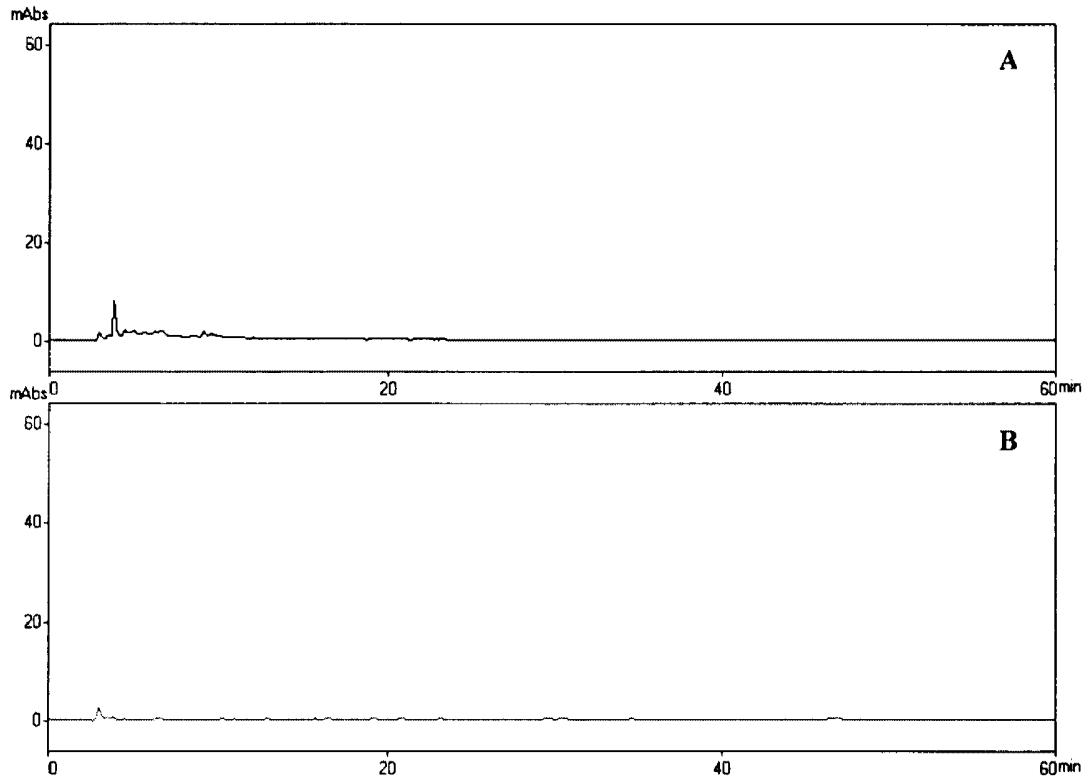


FIGURA 8

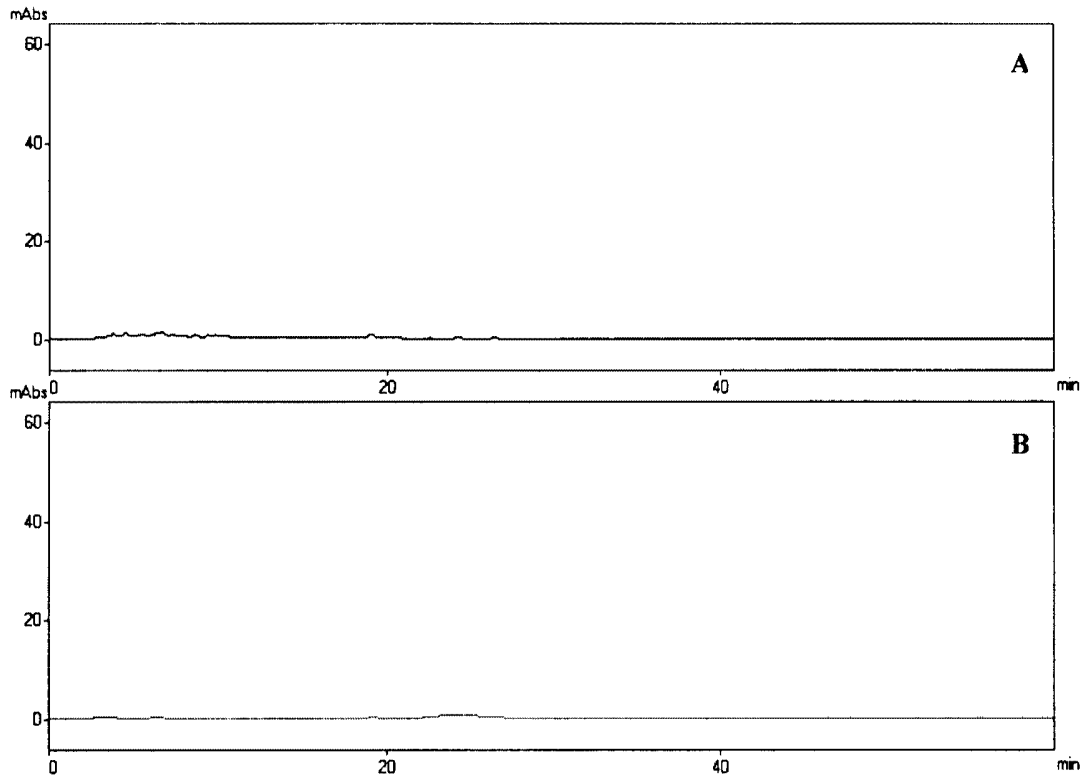


FIGURA 9

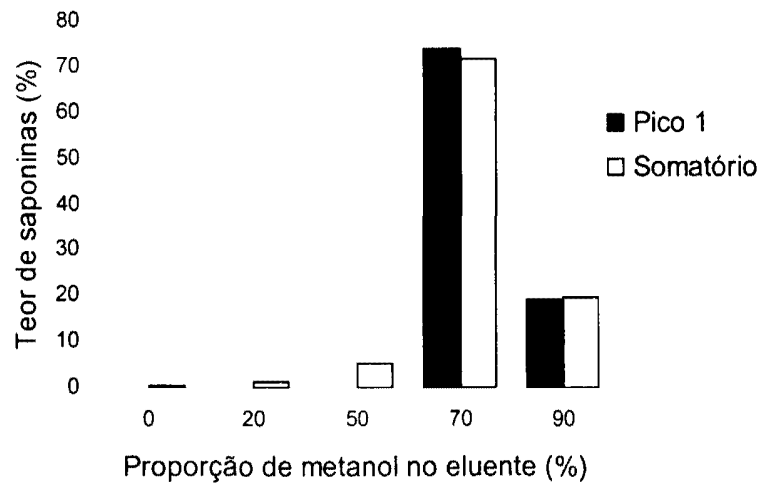


FIGURA 10

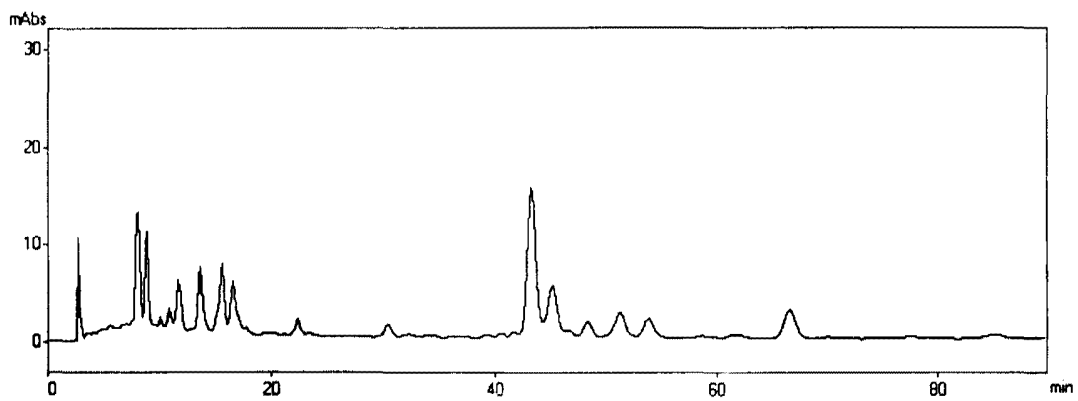


FIGURA 11

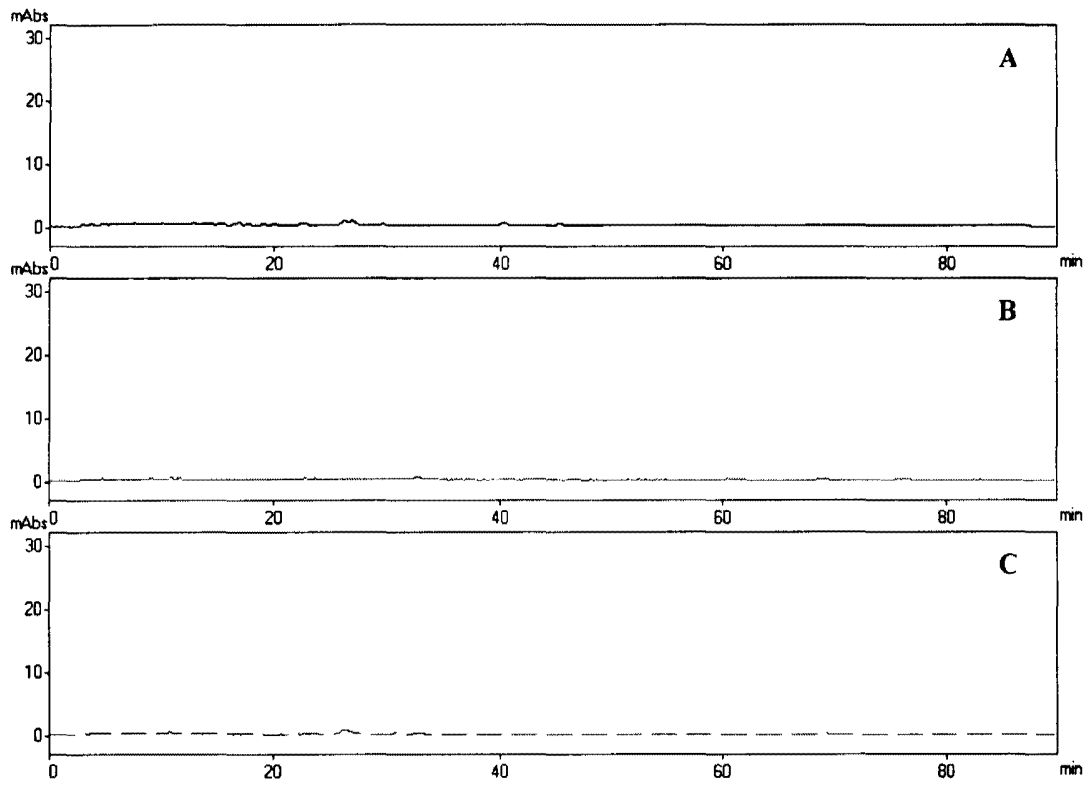
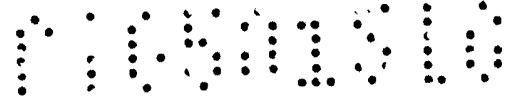


FIGURA 12





## Resumo

Processo de obtenção de fração purificada de substâncias saponosídicas e  
Uso de substâncias saponosídicas

5           A presente invenção descreve um processo de obtenção de uma  
fração enriquecida de substâncias saponosídicas a partir de extratos vegetais  
de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. (erva-mate), mediante purificação em fase  
sólida, utilizando resina de poliestireno, sendo também descritos métodos  
analíticos aplicados à caracterização e padronização das frações  
10 saponosídicas. O processo da presente invenção tem como vantagens escasso  
risco com solventes orgânicos, exclui o emprego de solventes clorados,  
minimiza o impacto ambiental; é barato, rápido e reproduzível, com poucas  
variáveis de processo, o que torna fácil a sua transposição de escala.