

Desenvolvimento de metodologias em CLAE com o conceito de química verde para o estudo das folhas de *Eugenia speciosa*

João H. Pelissari¹ (IC), Vanessa S. Fakhoury¹ (IC), Daniel Rinaldo¹ (PQ)*. E-mail: danielrinaldo@fc.unesp.br

¹Faculdade de Ciências da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (FC-UNESP)

Palavras Chave: *Eugenia speciosa*, química verde, cromatografia verde

Introdução

A espécie *Eugenia speciosa* é uma planta encontrada no cerrado brasileiro. Levantamento etnofarmacológico realizado pela profa. Dra. Clélia Akiko Hiruma (IB-UNESP) relatou o uso popular dessa espécie no tratamento de inflamações. Estudos de extratos das folhas de *E. speciosa* são escassos. Buscando novas estratégias de análise de extratos das folhas de *E. speciosa* que permitam a identificação inequívoca dos metabólitos presentes com menores riscos à saúde do analista e custos reduzidos com tratamento de resíduos, este trabalho teve como objetivo desenvolver metodologias de análise por CLAE com conceitos da química verde.

Resultados e Discussão

Com as folhas de *E. speciosa*, foi preparado o extrato hidroalcoólico, por maceração, com uma mistura extratora na proporção 7:3 EtOH/H₂O. Uma quantidade de 20mg do extrato bruto foi fracionada em cartucho *Sep-Pack* C₁₈ em que foi eluído 3 mL da mistura EtOH:H₂O (1:9, v/v) para eliminação de possíveis açúcares e metabólitos primários de alta polaridade e, em seguida, foram obtidas duas frações eluídas com EtOH:H₂O (1:1, v/v, fr1:1) e com EtOH 100% (fr:100%). Para serem analisadas por CLAE-DAD, as mesmas foram filtradas utilizando micro-filtros de 0,45 µm (PTFE). Os métodos de eluição para a análise das frações fr 1:1 e fr 100% por CLAE foram desenvolvidos baseados na proposta de Snyder, Kirkland e Glajch (1997)¹. O equipamento utilizado foi um Jasco (bomba PU-2089S Plus, amostrador AS-2055 Plus, forno de coluna CO-2060 Plus), composto por um sistema de solvente binário, sendo solvente A (H₂O + 0,1 % de Ác. fórmico) e solvente B (EtOH + 0,1% de Ác. fórmico), com uma coluna VarianRP C₁₈ (250 x 4,60 mm d.i. x 4 µm) à 60 °C, com vazão de 1 mL.min⁻¹ acoplado a um detector de arranjo de fotodiodos (DAD, Jasco MD-2015 Plus). A escolha do melhor método de eluição foi baseada na quantidade de números de picos exibidos pelos cromatogramas com áreas que permitissem a análise dos espectros UV. Os melhores métodos foram gradiente de 0-50% de B em 30 min para a fr 1:1 (fig. 1) e isocrático com 65% de B em 10 min seguido por um gradiente de 65-100% de B até 20 min e mais um sistema isocrático com 100% de B até 30 min para a fr 100% (fig. 2). Os métodos escolhidos apresentaram fatores de retenção na faixa de 2,16 a 9,54 os quais

compreendem a faixa aceitável $0,5 < k < 20$.¹ A temperatura da análise foi de 60°C com o objetivo de diminuir a pressão exercida pela mistura EtOH/H₂O, deixando-a compatível com o sistema CLAE e também para não exceder o limite máximo de temperatura suportado pela coluna que é de 65°C, segundo o fabricante.

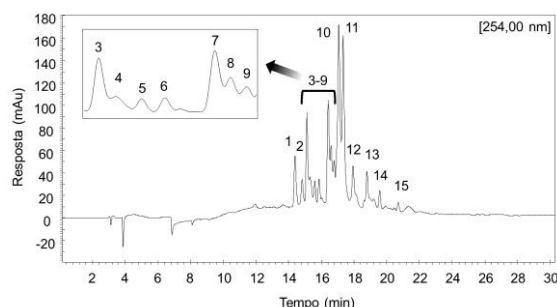


Figura 1. Perfil cromatográfico da fr.1:1; $\lambda = 254\text{nm}$.

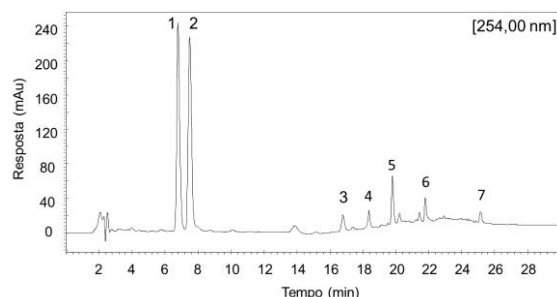


Figura 2. Perfil cromatográfico da fr.100; $\lambda = 254\text{nm}$.

Conclusões

O método cromatográfico verde desenvolvido para a análise do extrato hidroalcoólico das folhas de *E. speciosa* apresentou seletividade satisfatória para os picos majoritários, o que permite a identificação inequívoca dessas substâncias por comparação dos tempos de retenção e espectros UV com os de padrões autênticos. Além disso, esse método não utilizou solventes tóxicos prejudiciais à saúde do analista e não gerou resíduos que necessitam de tratamentos de alto custo. Por tratar-se de uma espécie inédita, estudos de elucidação estrutural das substâncias presentes nas frações já vêm sendo realizados.

Agradecimentos

Pró-Reitoria de pesquisa da UNESP e ao Professor Dr. Valdecir Farias Ximenes da FC-UNESP.

¹Snyder, L. R.; Kirkland, J. J.; Glajch, J. L. *Practical HPLC method development*. 1997, John Wiley & Sons, 2nd ed.