

## Desenvolvimento de metodologia de análise em CLAE com o conceito de química verde para o estudo das folhas de *Davilla elliptica*.

Vanessa S. Fakhoury<sup>1</sup> (IC), João H. Pelissari<sup>1</sup> (IC), Daniel Rinaldo<sup>1</sup> (PQ)\*. E-mail: danielrinaldo@fc.unesp.br

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

Palavras Chave: *Davilla elliptica*, sustentabilidade, química verde, cromatografia verde

### Introdução

Para uma utilização segura e eficaz, os fitoterápicos necessitam de um severo controle de qualidade. Porém, grandes quantidades de solventes tóxicos são utilizadas na maioria das investigações fitoquímicas. Tendo como objetivo fundamental a diminuição ou eliminação destes resíduos, este projeto tem como proposta utilizar conceitos da Química Verde na análise do extrato hidroalcoólico das folhas de *Davilla elliptica*. Esta espécie é encontrada no cerrado brasileiro e utilizada na medicina popular no tratamento de inflamações e úlceras gástricas.

### Resultados e Discussão

O extrato hidroalcoólico (EHA) foi preparado por maceração das folhas de *D. elliptica* com uma mistura extratora de 70% etanol/água. Em seguida, o extrato foi submetido a um *clean-up* por extração em fase sólida com cartucho de C<sub>18</sub> Phenomenex (500 mg/3mL), baseada na metodologia já estabelecida pelo nosso grupo de pesquisa (fig. 1). Para a análise por CLAE-DAD, a fração do *clean-up* foi filtrada em microfiltro de 0,45 µm (PTFE, Phenomenex) e injetada em um equipamento Jasco (bomba PU-2089S *Plus*, amostrador AS-2055 *Plus*, forno de coluna CO-2060 *Plus*, detector MD-2015 *Plus*) com um sistema binário de solventes, sendo o solvente A uma mistura de água : ácido fórmico (99,9:0,1, v/v) e o solvente B uma mistura de etanol : ácido fórmico (99,9:0,1, v/v), em uma coluna de C<sub>18</sub> Varian (250 x 4,60 mm d.i., 4 µm), à 60 °C, com vazão de 1 mL.min<sup>-1</sup>. O desenvolvimento do método foi baseado nos parâmetros cromatográficos: k\* (para sistema gradiente), seletividade ( $\alpha$ ) e resolução (Rs), seguindo o protocolo proposto por Snyder, Kirkland e Glajch (1997)<sup>1</sup>. O melhor método de eluição obtido para a fração 1:1 (fig.2) foi o gradiente de 3 a 50% de B em 30 min, que apresentou um fator de retenção (k\*) de 4,8, dentro da faixa considerada ideal (0,5 < k\* < 20) e maior número de picos presentes no cromatograma com áreas que permitissem a análise dos espectros UV. A temperatura de 60 °C foi estabelecida para abaixar a pressão do sistema devido à viscosidade do etanol e para não exceder o limite máximo de temperatura (65 °C) que suporta a coluna, segundo o fabricante.

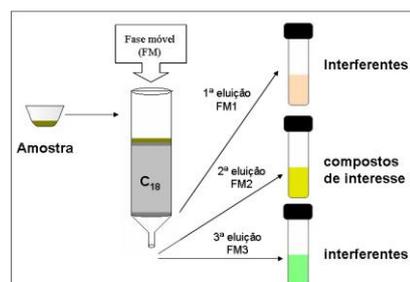


Figura 1. Ilustração da metodologia de extração em fase sólida utilizada para 20 mg do EHA [FM1 9:1 (H<sub>2</sub>O:EtOH, v/v), FM2 1:1 (H<sub>2</sub>O:EtOH, v/v) e FM3 100% (EtOH)].

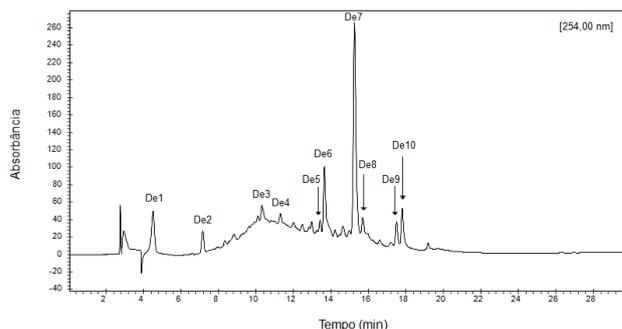


Figura 2. Perfil cromatográfico da fr. 1:1;  $\lambda = 254$  nm.

### Conclusões

O método cromatográfico verde desenvolvido para a análise do extrato hidroalcoólico das folhas de *D. elliptica* apresentou seletividade satisfatória para os picos majoritários, o que permite a identificação inequívoca dessas substâncias por análise dos espectros UV e co-injeção com padrões autênticos. O perfil cromatográfico obtido possui resolução semelhante aos já publicados para esta espécie<sup>2,3</sup>. Além disso, esse método não utilizou solventes tóxicos prejudiciais à saúde do analista e não gerou resíduos que necessitam de tratamentos de alto custo.

### Agradecimentos

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

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

<sup>2</sup>Rodrigues, C. M. et al. *Phytochem. Anal.* 2008, 19, 17.

<sup>3</sup>Rinaldo, D. et al. *Quim. Nova.* 2006, 29, 947.