



DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA POR ELETROFORESE CAPILAR DE FRAÇÃO SEMIPURIFICADA DE *Limonium brasiliense*

Gustavo Cesar Abreu Soares (PIBIC/FA/Uem), Raquel Garcia Isolani, João Carlos Palazzo de Mello (Orientador), e-mail: mello@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR

Área: Ciências Biológicas/Farmácia-Farmacognosia

Palavras-chave: Baicuru, rizoma, eletroforese capilar.

Resumo

Limonium brasiliense, comumente conhecida por baicuru ou guaicuru, é utilizada no tratamento de tensão pré-menstrual e outros distúrbios menstruais. O objetivo foi avaliar, por eletroforese capilar, extrato dos rizomas de *L. brasiliense* para identificação de polifenóis presentes em uma fração semipurificada. A catequina não apresentou resultados satisfatórios em comparação a epicatequina. O método não se mostrou robusto nas condições realizadas.

Introdução

Muitos países, como o Brasil, fazem o uso de medicamentos advindos de drogas vegetais. Assim sendo, é crescente o rigor na padronização e controle de qualidade desses produtos. O desenvolvimento de métodos analíticos eficientes capazes de identificar e quantificar os principais marcadores químicos, preferencialmente responsáveis pela atividade farmacológica, é necessário para o controle de qualidade desses medicamentos.

O *Limonium brasiliense* (Boiss.) Kuntze, popular baicuru ou guaicuru, é um subarbusto perene pertencente à família Plumbaginaceae. Os rizomas debaicuru são indicados como diurético, no tratamento de reumatismo, artrismo, úlceras, na hemorragia intestinal e diarreia crônica (MOURA, 1984; CARDOSO, 1990). Destaca-se que esta droga já compôs o mercado



FUNDAÇÃO
ARAUCÁRIA

CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento
Científico e Tecnológico



PARANÁ
GOVERNO DO ESTADO
Secretaria da Ciência, Tecnologia
e Ensino Superior



farmacêutico industrial em, pelo menos, oito diferentes formulações, todos com indicação ao tratamento de distúrbios menstruais e tensão pré-menstrual (TPM), porém, nenhum desses produtos permaneceu legalmente no mercado brasileiro por falta de estudos científicos. Existem estudos em andamento para a avaliação de atividade biológica das raízes de *L. brasiliense* e por isso pressupõe-se a necessidade de estudos que possam garantir um controle de qualidade da matéria-prima vegetal, justificando, portanto o estudo desse trabalho, para desenvolvimento de metodologia analítica para a possível identificação e quantificação de uma fração semipurificada, obtida dos rizomas de *L. brasiliense*, utilizando a eletroforese capilar (EC).

Materiais e métodos

Validação de metodologia analítica por Eletroforese Capilar (ITO, 2011; SEREIA, 2013)

Para a determinação da linearidade, utilizou-se a amostra de FAE 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ adicionada de padrão interno. A curva de calibração foi obtida a partir da análise de seis diferentes concentrações do padrão em triplicata e em três dias diferentes, a serem estabelecidas. A precisão intra-corrída ou repetibilidade do método foi verificado por no mínimo seis determinações do padrão interno a 120 $\mu\text{g mL}^{-1}$. O critério para aceitação foi coeficiente de variação (CV) menor que 5% (BRASIL, 2003; ICH, 2005). Já a precisão inter-corrída ou intermediária foi verificada por no mínimo seis determinações do padrão interno a 120 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em dois dias distintos. O critério para aceitação foi coeficiente de variação (CV) menor que 5% (BRASIL, 2003; ICH, 2005).

O limite de detecção foi determinado pela fórmula:

$$LD = \frac{3 \cdot DP\alpha}{IC}$$

em que DP α é o desvio padrão do intercepto com o eixo do y de, no mínimo 3 curvas de calibração construídas e IC é a inclinação da curva de calibração (BRASIL, 2003).

O limite de quantificação foi determinado pela fórmula:

$$LQ = \frac{10 \cdot DP\alpha}{IC}$$



FUNDAÇÃO
ARAUCÁRIA

CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento
Científico e Tecnológico



PARANÁ
GOVERNO DO ESTADO
Secretaria da Ciência, Tecnologia
e Ensino Superior



em que DP_a é o desvio padrão do intercepto com o eixo do y de, no mínimo 3 curvas de calibração construídas e IC é a inclinação da curva de calibração (BRASIL, 2003; ICH, 2005).

A exatidão do método foi determinada pela fórmula:

$$\text{Exatidão} = \frac{\text{concentração média experimental}}{\text{concentração teórica}} \cdot 100$$

a partir da análise de três concentrações de padrão interno (20, 50 e 80 µg mL⁻¹) em triplicata. A avaliação da robustez foi realizada por meio de pequenas variações das condições eletroforéticas estabelecidas.

Resultados e Discussão

Linearidade:

Curva de calibração da epicatequina forneceu a seguinte equação da reta: $y=0,0445x-0,2262$, com o seguinte coeficiente de determinação: $r^2=0,9912$.

Curva de calibração da catequina forneceu a seguinte equação da reta: $y=0,090x-1,307$, com o seguinte coeficiente de determinação: $r^2=0,872$.

Precisão:

Epicatequina

- Repetibilidade: 3,08%
- Precisão intermediária: 3,44%

Catequina

- Repetibilidade: 14,28%
- Precisão intermediária: 64,91%

Exatidão:

Epicatequina

- Repetibilidade: 109,25±3,75%.

Catequina

- Repetibilidade: 95,79% ± 6,72%

LD:

Epicatequina = 3,3 SD/S - 6,6070 µg mL⁻¹

Catequina = 7,51 SD/S - 7,51 µg mL⁻¹

LQ:

Epicatequina = 10 SD/S - 20,0212 µg mL⁻¹

Catequina = 22,78 SD/S - 22,78 µg mL⁻¹



FUNDAÇÃO
ARAUCÁRIA

CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento
Científico e Tecnológico



PARANÁ

GOVERNO DO ESTADO
Secretaria da Ciência, Tecnologia
e Ensino Superior



Os dados obtidos para a catequina não saíram como esperado devido a dois possíveis motivos: 1) equipamento estar descalibrado e 2) inexperiência no preparo da amostra.

Conclusões

Para uma publicação futura, alguns dos experimentos serão repetidos. Em outros trabalhos foi comprovado que o método é linear, preciso e exato, mas não robusto e nem estável devido à necessidade de preparo do tampão diariamente.

Agradecimentos

Ao programa CNPq/PIBIC e à Fundação Araucária pelo financiamento do projeto de pesquisa e aos membros do Laboratório Palafito UEM pelo apoio durante a execução do trabalho.

Referências

CARDOSO, M.L.C. *Limonium brasiliense* (Boiss.) Kuntze, *Plumbaginaceae* (Baicuru): Desenvolvimento galênico de extratos. 1990. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 101 f., 1990.

ITO, L. A. (2011). Desenvolvimento de metodologia analítica por eletroforese capilar para isolar, identificar e quantificar cafeína e flavan-3-ol em extrato de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke – Sapindaceae. (Mestrado), Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

MOURA, T.F.A.L. *Sobre o Limonium brasiliense* (Boiss.) Kuntze, *Plumbaginaceae*, o baicuru da Farm. Bras. I. 1984. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 146 f., 1984.

SEREIA, A. L. (2013). Desenvolvimento de metodologia analítica por eletroforese capilar para identificação e quantificação de polifenóis de fração semipurificada de *Trichilia catigua* A. Juss (Meliaceae). (Mestrado), Universidade Estadual de Maringá, Maringá.



FUNDAÇÃO
ARAUCÁRIA

CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento
Científico e Tecnológico



PARANÁ
GOVERNO DO ESTADO
Secretaria da Ciência, Tecnologia
e Ensino Superior