

Desenvolvimento e validação de metodologia por CLAE-DAD para determinação de naringenina em *Lippia gracilis* Shauer.

Daniele S. dos Santos¹ (PG), Silvana V. F. Gomes¹ (PG), Adriana G. Guimarães¹ (PG), Alan Diego C. Santos¹ (IC), Iara L. de Matos¹ (IC), Lúcia R. R. Martins² (PQ), Valéria R. S. Moraes¹ (PQ), Samísia M. F. Machado¹ (PQ), Monalisa D. Viana³ (PG), Arie F. Blank³ (PQ), Paulo Cesar L. Nogueira¹ (PQ)*
*pclimanog@uol.com.br

¹Departamento de Química, Universidade Federal de Sergipe, Av. Marechal Rondon s/n, Jd. Rosa Elze, 49-100-000, São Cristóvão, Sergipe; ²Departamento de Química e Biologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Av. Sete de setembro, 3165, Centro, Curitiba, Paraná, ³Departamento de Engenharia Agrônômica, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe.

Palavras Chave: Verbenaceae, *Lippia gracilis*, CLAE-DAD, naringenina.

Introdução

Lippia gracilis Shauer (Verbenaceae) é uma planta aromática endêmica do nordeste brasileiro, sendo encontrada, principalmente, nos estados da Bahia, Sergipe e Piauí, onde é conhecida como “alecrim-da-chapada” ou “alecrim-de-serrote”¹. Na medicina popular é utilizada para infecções, doenças de pele, queimaduras e feridas.^{1,2} Em continuidade ao nosso estudo sobre *L. gracilis*, neste trabalho relatamos a validação de um método cromatográfico por CLAE-DAD para quantificação da naringenina nos extratos das folhas, caules, e do decocto das folhas submetidos a estresse hídrico (com ou sem irrigação) dos 07 genótipos estudados (106-110; 201 e 202).

Resultados e Discussão

As amostras dos 07 genótipos de *L. gracilis* foram coletadas no Campus Rural da UFS e os respectivos extratos preparados de acordo com o previamente descrito³. As melhores condições de análise utilizando o sistema CLAE-DAD Shimadzu LC 20A Prominence foram: coluna analítica Hexil-fenil Phenomenex Luna[®] (15x0,46cm, 10µm); eluição gradiente no modo reverso, utilizando ACN (A) e H₂O (B): 18-30% (A) por 20 min., 30% (A) por 5 min., 30-18% (A) por 3 min., 18% (A) por 5 min.; vazão 0,8 mL/min; volume de injeção 25 µL e λ=285 nm. Naringenina (Sigma-Aldrich, 95% de pureza), foi usada como o padrão de referência por ser um metabólito isolado desta planta por nosso grupo de pesquisa. A validação da metodologia analítica seguiu os parâmetros definidos na RE nº 899/03 da Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA)⁴: especificidade, linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação. A linearidade foi determinada por dois modos de padronização (Padrão Externo e Adição de Padrão), obtendo-se as equações das regressões lineares $y=4098,23466+24722,3714x$ ($r^2=0,99988$) e $y=701917,69129+24563,99662x$ ($r^2=0,99908$), respectivamente, em 6 diferentes concentrações. A comparação entre as curvas mostrou um coeficiente de variação de 0,9% o que demonstra não haver interferência da matriz na resposta analítica.

O limite de quantificação e detecção do método foi de 0,7 µg/mL e 0,1 µg/mL, respectivamente. A precisão variou entre 0,7 a 4,1% (CV%) e a exatidão variou entre 77,4 a 97,9% (% recuperação), ficando todos os valores dentro dos limites aceitáveis pela norma da ANVISA para métodos analíticos⁴. A aplicação do método feito nas amostras de *L. gracilis*, mostra que o extrato das folhas do genótipo 202 apresenta uma maior quantidade de naringenina, 112,3 µg.mL⁻¹. Um resultado interessante pôde ser observado com os decoctos das folhas sob estresse hídrico. Os decoctos isentos de irrigação apresentaram uma maior quantidade de naringenina (genótipo 108: 75,33µg.mL⁻¹) quando comparados àqueles submetidos a irrigação (genótipo 108: 17,00 µg.mL⁻¹) (Figura 1).

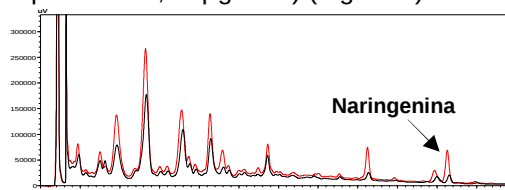


Figura 1: Cromatogramas CLAE-DAD do decocto das folhas do genótipo 108 de *L. gracilis* com (preto) e sem (vermelho) irrigação.

Conclusões

Esse trabalho apresenta uma contribuição ao controle de qualidade de extratos de *L. gracilis* através da validação de um método de análise por CLAE-DAD.

Agradecimentos

RENORBIO, CAPES, CNPq, INCT-CBIP, UFS.

¹ Agra, M.F. et al. *Rev. Bras. Farmacogn.* **2007**, 17, 114.

² a) Pascual, M.E. et al. *J. Ethnopharmacol* **2001**, 76, 201.

³ a) Gomes, S.V.F. *Dissertação de Mestrado*, UFS, **2009**; b) Machado, S.M.F. et al. *32ª Reunião Anual da SBQ*, Fortaleza, **2009**, PN- 066.

⁴ BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RE 899 de 29 de maio de 2003**.