

# Desenvolvimento de método para determinação de piperina em extrato de *Piper nigrum* por UPLC-PDA-FLD.

Thais S. Andrade<sup>1</sup> (PQ), \*Vanessa X. Silva<sup>1</sup> (TM), Vivianne G. Martins<sup>1</sup> (PQ), Simone C. Chiapetta<sup>1</sup> (PQ).

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Tecnologia, Av. Venezuela, 82, Saúde, Rio de Janeiro- RJ.

\*vxs.vanessa@gmail.com

Palavras Chave: Piperina, *Piper Nigrum*, UPLC.

## Introdução

A piperina é um marcador alcalóide extraído das sementes de pimenta da espécie *Piper nigrum*. É utilizada na medicina tradicional e como inseticida devido à variedade de propriedades farmacológicas, como antiinflamatória e antifúngica<sup>1</sup>. Recentemente, formulações com este fitoconstituente, associado a diversos fármacos, tem sido patenteadas por sua capacidade de potencializar a biodisponibilidade dos mesmos, e na composição de armas químicas não-letais, devido à suas características que conferem irritação aos olhos e mucosas.

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de método analítico para a determinação do extrato de *Piper nigrum* através da determinação do teor do marcador piperina (PIP), por cromatografia a líquido de ultra eficiência (UPLC) com detector por arranjo de fotodiodo (PDA) e de fluorescência (FLD) em linha.

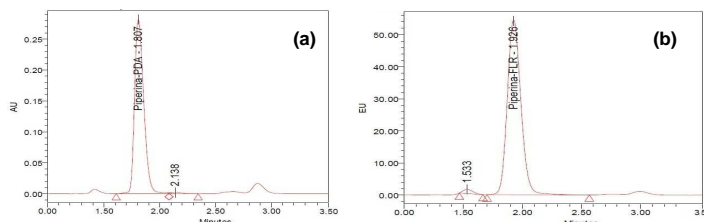
## Resultados e Discussão

Neste trabalho, a determinação do marcador piperina, em amostra de extrato, foi realizada pelo método de adição de padrão. Aproximadamente 25,0 mg do extrato foi diluído em 5,0 mL de metanol. Após a filtração, em membrana PTFE 0,22 µm, 20,0 µL do extrato diluído foi fortificado com (5,0; 10,0; 15,0; 20,0 e 25,0 mg L<sup>-1</sup>) de uma solução padrão de piperina (1000 mg L<sup>-1</sup>) e avolumado para 1,0 mL com metanol. A amostra foi analisada por UPLC-PDA-FLD, em triplicata real (n=9), nas condições descritas na Tabela 1, com os perfis cromatográficos apresentados na figura 1.

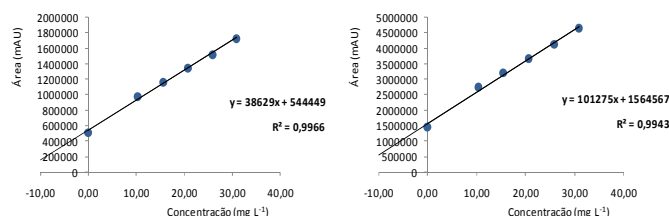
**Tabela 1.** Condições cromatográficas utilizadas para a determinação do teor de PIP por UPLC-PDA-FLD.

Fase móvel	MeOH:H <sub>2</sub> O (65:35% v:v)
Coluna	Acquity UPLC BEH C <sub>18</sub> (50 x 2,1 mm; 1,7 µm)
Injeção, Vazão, Temperatura	1,0 µL; 0,2 mL min <sup>-1</sup> ; 50 °C
Comprimento de onda PDA e FLD	343 ± 1 nm □excitação: 339 nm e □emissão: 450 nm

Os perfis cromatográficos apresentam picos bem resolvidos, com tempos de retenção da PIP de 1,81 min para o PDA e de 1,93 min para o FLR. Os resultados mostraram que o método apresentou linearidade na faixa de 5,04 a 31,3 mg L<sup>-1</sup>, r<sup>2</sup>= 0,9966 e 0,9943 e resolução de 3,68 e 2,62 para o PDA e FLR, respectivamente. Na Figura 2, estão representadas as curvas de adição do padrão de PIP sobre a amostra de extrato.



**Figura 1:** Perfis cromatográficos para a análise de piperina nos detectores PDA (a) e FLR (b).



**Figura 2:** Curvas de adição de padrão de PIP sobre o extrato de *Piper nigrum* analisado por (a) UPLC-PDA e (b) UPLC-FLD.

A comparação entre os coeficientes angulares das curvas de adição de padrão, obtidas por diferentes detectores, demonstrou que o FLD apresenta sensibilidade 2,6 vezes maior do que o PDA na quantificação de PIP.

Na Tabela 2 estão descritos os resultados obtidos na determinação do extrato de *Piper nigrum*, que não apresentaram diferença significativa.

**Tabela 2.** Comparação entre os resultados obtidos na determinação da PIP por UPLC-PDA-FLD (n=9).

Conc. (mg Kg <sup>-1</sup> )	1	2	3	S <sup>2</sup>	F <sub>calc</sub> *
PDA	19987,9	19317,6	18584,1	493010	1,39
FLD	21539,0	20755,6	20370,3	354697	

\* F<sub>calc</sub> < F<sub>tab</sub> - não há diferença significativa para a determinação de PIP por quaisquer detector (F<sub>tab</sub> = 3,44; nível de significância 5%)

## Conclusões

O método desenvolvido neste estudo mostrou ser simples, sensível, rápido e adequado à determinação de piperina no extrato de *Piper nigrum*, apesar da complexidade da matriz. Os detectores utilizados no método desenvolvido apresentaram respostas equivalentes, quando submetidos à mesma faixa de trabalho, possibilitando a aplicação do método no monitoramento da piperina em diferentes formulações.

## Agradecimentos

Ao INT, CNPq.

<sup>1</sup> Xiaoji Caoa, Xuemin Yea, Yanbin Lub, Yi Yua, Weimin Moa. *Analytica Chimica Acta* 640 (2009) 47–51

<sup>2</sup> Sunil Bajada, A.K. Singlab, K.L. Bedia. *Journal of Chromatography B*, 776 (2002) 245–249