



VALIDAÇÃO DE MÉTODO POR CLAE PARA QUANTIFICAÇÃO SIMULTÂNEA DE RUTINA, ISOQUERCITRINA E QUERCITINA NA TINTURA DE *Sambucus nigra*, ADOXACEAE

Testoni, L.D.; Boldieri, A.S.; Couto, A.G.; Bresolin T.M.B.

Centro de Ciências da Saúde, Universidade do Vale do Itajaí, SC, Brasil.
*leticiatestoni@gmail.com

Introdução: A *Sambucus nigra* L. pertencente à família Adoxaceae é uma planta exótica, originária da Europa, Ásia e África, conhecida como sabugueiro, usada popularmente no tratamento de estados febris, calafrios e como expectorante no caso de inflamações brandas do trato respiratório superior e tratamento sintomático no resfriado. A droga vegetal, constituída das flores, apresenta monografia na Farmacopeia Brasileira (FB) na qual deve apresentar, no mínimo, 1,5% de flavonoides, expressos em quercitina, empregando espectrofotometria, e, no mínimo, 1% de rutina, empregando metodologia por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), não havendo monografia para a tintura. O método por CLAE, publicado na literatura, para análise dos 3 marcadores rutina, isoquercitrina e quercitina, não apresenta validação analítica. **Métodos:** A tintura de *S. nigra*, obtida por percolação a quente, foi analisada por CLAE, conforme metodologia previamente adaptada da FB, incluindo os 3 marcadores, após diluição 1:5, 1:10 e 1:20. Esta metodologia foi validada quanto à linearidade, intervalo, precisão, robustez (variação do fluxo, temperatura, proporção de ácido na Fase móvel e lote da coluna) e testes de degradação forçada (hidrólise ácida e básica, oxidação, termólise) a fim de verificar se a mesma é indicativa de estabilidade da tintura. **Resultados:** A diluição 1:5 da tintura apresentou maior teor de marcadores, sendo 11,8, 3,3 e 2,7 mg/g de rutina, isoquercitrina e quercitina, respectivamente. Na determinação da linearidade dos marcadores observou-se boa regressão linear para os três marcadores nos intervalos testados (rutina: $y=48643x-277514$ com $r^2=0,9974$ a 1,1 - 220,6 $\mu\text{g/mL}$; isoquercitrina: $y=70348x-87791$ com $r^2=0,9994$ a 1,0 - 100,7 $\mu\text{g/mL}$; quercitina: $y=105659x-228827$ com $r^2=0,9974$ a 1,1 - 109,9 $\mu\text{g/mL}$). A precisão intradia foi satisfatória, com DPR < 3,0% para os 3 marcadores, já a precisão inter-analistas mostrou variabilidade excessiva para a quercitina, com DPR de 20,7, 17,5 e 11,8% para a rutina, isoquercitrina e quercitina, respectivamente. Na robustez, para a rutina e isoquercitrina o DPR frente às variações deliberadas no método foi de no máximo 2,7% para rutina e 13,4% para isoquercitrina. Porém, para a quercitina foi de 79,3%, 86,8%, 3,0% e 7,9%, na variação do lote da coluna, pH da fase móvel, fluxo e temperatura, respectivamente. Nos testes de degradação forçada a hidrólise ácida não promoveu degradação da rutina e isoquercitrina, porém a quercitina mostrou aumento de teor, após 2 h, devido a hidrólise de outros flavonoides glicosilados. Na oxidação e na exposição ao calor, após 2 h, há aumento no teor dos 3 marcadores, especialmente a



I SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM INVESTIGAÇÕES QUÍMICO-FARMACÊUTICAS



UNIVALI
Itajaí, Santa Catarina, Brasil
11 a 12 de dezembro de 2017

quercitina. Análises por LC-MS estão em andamento para a melhor compreensão dos resultados de degradação forçada. **Conclusão:** a metodologia por CLAE da droga vegetal foi adaptada com sucesso para a tintura, porém, necessita maior padronização entre analistas diferentes. Para a quercitina, há maior variabilidade na sua quantificação ao trocar a coluna e modificar o pH da fase móvel.