

Introdução

Equisetum giganteum L. (Figura 1), comumente conhecida como cavalinha, é uma planta da família Equisetaceae, nativa da América Central e América do Sul.

Suas partes aéreas são utilizadas popularmente, sob a forma de infusão, como diurético, hemostático, antiinflamatório, cicatrizante e remineralizante. É amplamente empregada em substituição a *E. arvense*.

E. arvense está presente nas farmacopéias européias e seu doseamento é feito pela técnica espectrofotométrica de flavonóides totais, após hidrólise.

Já a *E. giganteum* é uma espécie pouco estudada em relação ao seu perfil químico e não possui monografia descrita nos códigos oficiais.



Figura 1.:
E. giganteum

Objetivo

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar um método espectrofotométrico para a determinação do teor de flavonóides totais (TFT) expresso como rutina, **sem o emprego de hidrólise**, para a droga vegetal de *E. giganteum*, avaliando os parâmetros: linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e robustez.

Materiais e métodos

◆ **Material Vegetal e reagentes:** Partes aéreas secas (<0,355 mm) de *E. giganteum* coletadas em Santo Antônio da Patrulha-RS (março/2008), água destilada, etanol (EtOH) anidro e 95% (P.A., FMaia), cloreto de alumínio (AlCl₃) hexa-hidratado (P.A., Vetec) e padrão químico de hidrato de rutina (≥ 94%, HPLC, Sigma-Aldrich) foram utilizados.

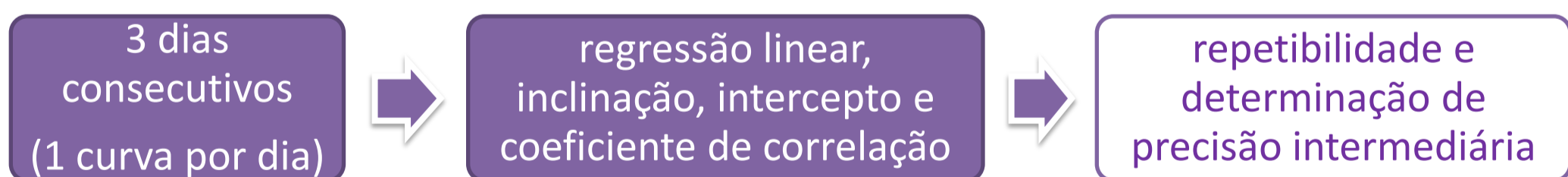
◆ Teor de flavonóides totais:

◆ O solvente, a substância de referência, a concentração de cloreto de alumínio, o tempo de reação, o comprimento de onda e proporção droga:solvente empregados foram avaliados previamente.

◆ Diferentes volumes de solução extrativa ou substância de referência (rutina), ambas em EtOH 50% (v/v), foram retomadas para 25 mL com o mesmo solvente, sendo ou não adicionados de AlCl₃ (5% m/v, em EtOH 50%), obtendo-se assim uma solução problema – **SP** e uma solução de compensação – **SC** respectivamente. Após incubação a 25°C por 30 min, a absorvância da **SP** foi determinada a 400 nm em espectrofotômetro (Shimadzu UV-160A) equipado com cubetas de quartzo de 1 cm, tomando a **SC** como branco.

◆ Validação (análise em triplicata):

◆ Linearidade: (6 pontos)



◆ Limites de detecção e de quantificação: Desvio padrão relativo (DPR%), do intercepto e da inclinação.

◆ Exatidão: Recuperação de 3 concentrações conhecidas de rutina.

◆ Robustez: Comprimento de onda de detecção 400 ± 2 nm, concentração final de AlCl₃ 0,4 ± 0,02% e concentração final de etanol 50 ± 5%.

Resultados

◆ Seleção do comprimento de onda

◆ 400 nm → máximo de absorção para o complexo AlCl₃-sol. extrativa de *E. giganteum* (Figura 2).

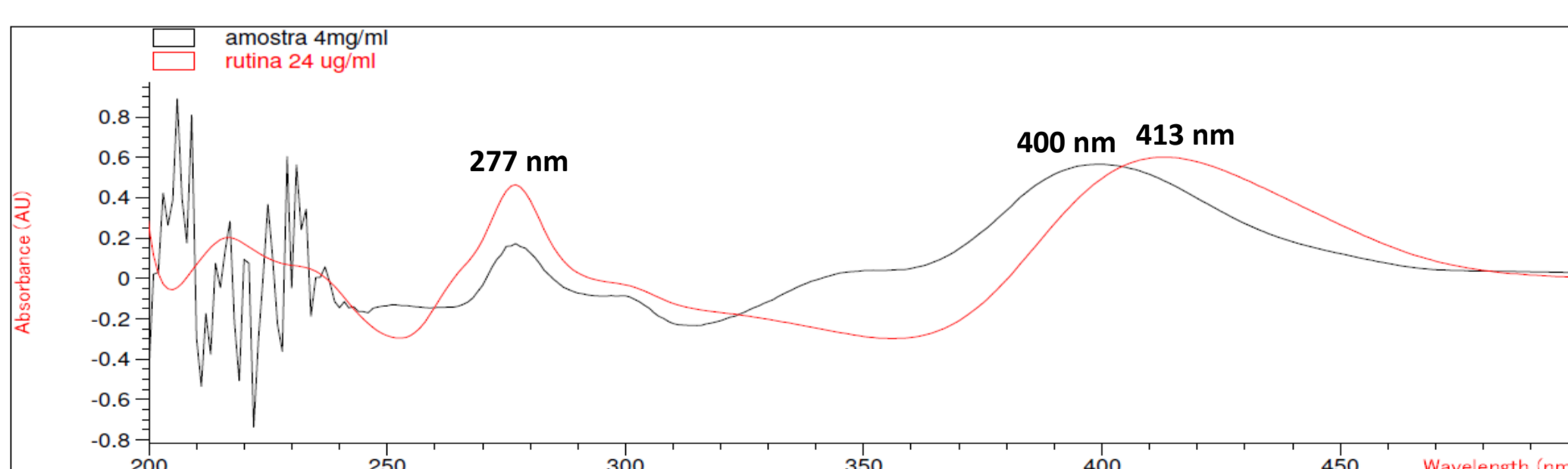


Figura 2: Espectro (200-500 nm) da solução rutina comparada com a de uma solução extrativa de *E. giganteum*, ambas complexadas com AlCl₃.

◆ Avaliação do tempo de estabilização do complexo

◆ Complexo AlCl₃-rutina: máx. após 15 min, estável por 1h.

◆ Complexo AlCl₃-sol. extrativa: máx. após 30 min, estável por 1h.

◆ Avaliação da proporção droga:solvente no teor de flavonóides totais

Maior rendimento de flavonóides totais, com o menor desvio padrão: 1g de droga vegetal para 100 mL de solvente (EtOH 50%), sendo o TFT obtido igual a 7,82 ± 0,03 mg/g, como equivalente em rutina.

◆ Validação

◆ Linearidade, LD e LQ

◆ Tabela 1.

Tabela 1.: Resultados de linearidade, LD e LQ

Parâmetro	Rutina	Amostra
Coefficiente de correlação	0,9998	0,9998
Inclinação ± desvio padrão	0,0209 ± 0,0001	0,1397 ± 0,0004
Intercepto ± desvio padrão	- 0,0004 ± 0,0014	- 0,0005 ± 0,0013
Intervalo de confiança do intercepto (95%)	- 0,0032 a 0,0025	- 0,0031 a 0,0022
LD	0,503 (µg/ml)	0,161 (mg de droga/mL)
LQ	1,525 (µg/ml)	0,489 (mg de droga/mL)
Faixa	4 - 39,996 µg/mL	0,8 - 6 mg de droga/mL

◆ Precisão:

◆ Repetibilidade: DPR de 0,02-1,6%.

◆ Precisão intermediária: DPR 0,27-4,93%.

◆ Os maiores DPRs foram obtidos em concentrações mais baixas de rutina (4 µg/mL), onde a absorvância foi de aproximadamente 0,08.

◆ Exatidão:

◆ Tabela 2.

Tabela 2.: Recuperação

Concentração	Quantidade acrescentada (µg/mL)	Quantidade detectada (µg/mL) ± DP	Recuperação	
			Porcentagem	DPR (%)
Baixa (80%)	7,999	8,252 ± 0,102	103,16	1,27
Média (100%)	15,998	16,184 ± 0,073	101,16	0,45
Alta (120%)	23,998	24,404 ± 0,107	101,69	0,45

◆ Robustez:

◆ Suscetível apenas à mudança de concentração final de etanol (p<0,05), especificamente na concentração de 45%, embora a absorvância foi apenas 1,97% superior aos parâmetros nominais.

◆ DPR <2,09%.

Conclusão

O método desenvolvido mostrou-se linear, preciso, exato e robusto nas condições avaliadas. Desta maneira, mostrou-se adequado para a quantificação de flavonóides totais, calculado como rutina, na droga vegetal de *Equisetum giganteum*.

Além disso mostrou-se mais rápido, menos trabalhoso e com menor variabilidade nos resultados que o método farmacopêico (após hidrólise) descrito para *E. arvense*.

Referências

- ICH - International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, 2005.
- BRITISH PHARMACOPOEIA CD-ROM. British Pharmacopoeia Commission Secretariat, United Kingdom, 2009.
- BERTALOT M. Diferenças morfológicas entre três espécies de cavalinha *Equisetum* sp. Associação biodinâmica. Último acesso em 26/07/2011, in: http://www.biodinamica.org.br/Boletim_eletronico/primavera/diferenca.html.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. Plantas medicinais no Brasil:nativas e exóticas. 2.ed. Nova Odessa: Plantarum, 2008.
- STOLIAR, C.; DENEDETTI, S. Parâmetros botânicos y cromatográficos para la monografía farmacopeica de "cola de caballo", *Equisetum Giganteum* L. Las Tesinas de Belgrano, 2009.