

Desenvolvimento e Validação de Método Bioanalítico para Quantificação do DM1 (Princípio Ativo com Atividade Antitumoral) em Plasma

Gilvan Leonardo^{1*} (PG), Carla R. M. Moreira² (IC), Reginaldo P. Santos¹ (PG), Rene M. Santos¹ (IC), Daniela G. Rando³ (PQ), José A. Quincoces¹ (PQ), Raul C. Maranhão⁴ (PQ), Claudete J. Valduga¹ (PQ).

¹Universidade Bandeirante de São Paulo (UNIBAN) - gilvanleonardo@uol.com.br. ²Centro Universitário Nove de Julho (UNINOVE). ³Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP. ⁴Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP.

Palavras Chave: Antitumoral, validação, cromatografia líquida, precipitação.

Introdução

No Brasil, o câncer é a segunda principal causa de morte. São registrados 200 mil novos casos por ano, com 90 mil óbitos¹.

Visando a melhora da qualidade de vida do Homem, ou mesmo a diminuição do sofrimento associado a algumas doenças crônicas, milhares de novos compostos são sintetizados anualmente.

Vários derivados de compostos extraídos da própolis têm sua atividade biológica comprovada. Entre outras, destacam-se a atividade antifúngica, antitumoral e antiparasitária². A 1,5-diaril-1,4-pentadien-3-ona (HB1) e seus derivados, obtidos pelo Grupo de Síntese Orgânica da Universidade Bandeirante de São Paulo (UNIBAN), vêm exibindo excelente perfil farmacológico frente a doenças epidemiologicamente importantes, como as neoplasias e parasitoses (leishmaniose e malária). Com o intuito de dar continuidade aos ensaios pré-clínicos do HB1, este trabalho tem como objetivo desenvolver um método bioanalítico para sua quantificação em amostras de plasma.

Para o desenvolvimento da metodologia bioanalítica para quantificação do DM1 em amostras de plasma, foi utilizada cromatografia líquida de alta performance (HPLC), em coluna de fase reversa CLC-ODS (M) C18, utilizando como fase móvel água:acetoneitrila:ácido acético (65:34:1) a 1,0 mL/min e detector UV a 254 nm.

Para extração do DM1 do plasma, foi utilizado metanol, que promove a precipitação das proteínas plasmáticas e a solubilização do DM1, que permanece no sobrenadante. Foi realizada uma curva de calibração com concentrações de 3,9 – 1.000 µg/mL em amostras de plasma, obtendo-se uma boa linearidade ($r^2 = 0,9991$). O método de análise é bastante específico, pois não existe nenhuma interferência no analito. O limite de detecção do DM1 foi de 3,9 µg/mL e o limite de quantificação, de 7,8 µg/mL. Precisão e acurácia (exatidão) do método foram determinadas pela análise das amostras de controle de qualidade (15,6, 62,5 e 250 µg/mL). O desvio padrão relativo (SRD) foi menor que 11 % para o ensaio “intra-day” e menor que 9,42 % para o ensaio “inter-day”. A acurácia esteve entre 82,4 % e 94,2 %. É possível afirmar que o método possui características adequadas para métodos bioanalíticos³.

Resultados e Discussão

O DM1, que é o sal monossódico do HB1 foi sintetizado de acordo com metodologia desenvolvida no laboratório de Síntese Orgânica da UNIBAN com bom rendimento (Figura 1).

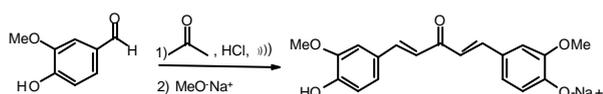


Figura 1. Síntese do DM1.

O HB1 foi transformado no seu respectivo sal sódico, para possibilitar sua solubilidade em água, veículo atóxico, ao contrário do DMSO, utilizado para solubilizar o HB1.

Conclusões

Com base nos resultados obtidos para validação do método bioanalítico, conclui-se que o método desenvolvido para análise do DM1 está validado.

Agradecimentos

FAPESP – Proc. N° 07/54139-9
Universidade Bandeirante de São Paulo

¹ Instituto Nacional do Câncer, disponível no endereço: www.inca.gov.br

² Pisco, L.; Kordian, M.; Peseke, K.; et al. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 401.

³ Shah, V. P.; Midha, K. K.; Dighe, S.; et al. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* **1991**; *16*, 249.