

Validação de método espectrofotométrico UV para a desidrocrotina em complexo de inclusão com hidroxipropil-β-ciclodextrina

Waldenice de A. Morais¹ (PG)*, Taciana L. Salviano¹ (PG), Rosana S. Batista¹ (IC), Gilvani G. de Carvalho² (IC), Maria Aparecida M. Maciel² (PQ) e Nereide S. Santos-Magalhães¹ (PQ).

¹Laboratório de Imunopatologia Keizo-Asami, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

²Laboratório de Tecnologia de Tensoativos, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, Brasil.

*waldenfarma@yahoo.com.br

Palavras Chave: validação, desidrocrotina, complexo de inclusão, hidroxipropil-β-ciclodextrina.

Introdução

O bioativo 19-nor-clerodane *trans*-desidrocrotina (DCTN), isolado da planta medicinal brasileira *Croton cajucara* Beth, apresenta inúmeras atividades biológicas, dentre as mais importantes o efeito hipoglicemiante.¹

Ciclodextrinas são oligossacarídeos cíclicos com diversas aplicações farmacêuticas, que possibilitam a modificação de propriedades físico-químicas de uma variedade de moléculas bioativas, com a formação de complexos de inclusão.²

O objetivo deste estudo foi desenvolver e validar método espectrofotométrico UV para a determinação da DCTN em complexo de inclusão com hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPβCD).

Resultados e Discussão

Os parâmetros linearidade, exatidão, precisão, especificidade e robustez foram avaliados de acordo com o guia de validação da Conferência Internacional em Harmonização (ICH).³

O método espectrofotométrico foi realizado utilizando comprimento de onda de 234 nm. Todas as soluções de DCTN foram preparadas em acetonitrila.

A faixa de linearidade foi de 1 a 20 µg/mL. Os parâmetros da regressão linear da curva de calibração estão na Tabela 1. A análise estatística por análise de variância (ANOVA) confirma que a regressão é significativa e o modelo linear está adequado, não sendo evidenciada falta de ajuste do modelo.

Tabela 1. Curva de calibração da DCTN em acetonitrila.

Coeficiente de correlação, R ²	0,99987
Inclinação ± desvio padrão	0,04214 ± 0,00022
Intercepto ± desvio padrão	-0,00147 ± 0,00062
Faixa de linearidade (µg/mL)	1 - 20
Desvio padrão relativo (%)	1,371 - 2,745
Número de pontos	6
F regressão (F crítico)	49918,85 (3,98)
F falta de ajuste (F crítico)	1,78 (2,50)

*Valor teórico de F baseado no teste ANOVA unilateral (P < 0,05).

A exatidão, determinada por estudos de recuperação, foi de 99,62 ± 0,49% a 100,02 ± 3,52%. A especificidade do método foi confirmada pela ausência de interferência em 234 nm da HPβCD pura por varredura espectrofotométrica.

A precisão intra e inter-dia foram realizadas em três níveis de concentração em triplicata (3, 5 e 10 µg/mL) e apresentaram desvios padrões relativos < 2% para todas as amostras realizadas.

A robustez do método foi avaliada com seis determinações no nível de concentração de 10 µg/mL. O método foi robusto mediante variação de temperatura (4°C e 25°C) e marca do solvente. Análise estatística por ANOVA e teste t de Student mostrou que não há diferença estatisticamente significativa no que se refere à precisão e à robustez do método (Tabela 2).

Tabela 2. Análise estatística da precisão e da robustez do método.

F precisão (F crítico)*	3,24 (4,07)
t robustez temperatura (t crítico)**	1,06 (2,57)
t robustez marca/solvente (t crítico)**	0,43 (2,57)

*Valor teórico de F baseado no teste ANOVA unilateral (P < 0,05).

**Valor teórico de t (cinco graus de liberdade) baseado em comparação de média com valor padrão (P < 0,05).

O método foi aplicado a um complexo de inclusão DCTN:HPβCD 1:1 (mol/mol), preparado em etanol:água 1:1 (v/v) por liofilização. O complexo de inclusão apresentou 95,48 ± 3,99% de DCTN usando o método validado.

Conclusões

O método proposto é linear, exato, preciso, específico e robusto, podendo ser aplicado de forma simples e rápida para quantificar a DCTN em preparações farmacêuticas como complexos de inclusão com HPβCD.

Agradecimentos

Suporte CNPq / UFPE.

¹Maciel, M.A.M.; Pinto, A.C.; Veiga Jr, V. F.; Martins, J. R.; Grynberg, N. F.; Echevarria, A.; Lapa, A.J. e Vanderlinde, F. A. *Recent Prog. Med. Plants*, 2002, 8, 459.

²Duchêne, D.; Wouessidjewe, D. e Ponchel, G. *J. Control. Release*, 1999, 62, 263.

³ICH Q2(R1). Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. Disponível em: <http://www.ich.org/LOB/media/MEDIA417.pdf>. Acesso em: 14 julho de 2008.