

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA EM CÁPSULAS DE NARINGENINA

Fabiane Carvalho Ballotin¹; Tânia Toledo de Oliveira²; Ricardo Antonio Zatti³; Camilo Amaro⁴, Vanessa Jóia de Mello⁵; Tanus Jorge Nagem⁶

Resumo: *Várias substâncias naturais possuem flavonoides que têm atividade antioxidante e anti-inflamatória, entre outras. Neste trabalho, foram desenvolvidos métodos de determinação quantitativa para controle de qualidade em cápsulas de naringenina utilizando CLAE. O método evidenciou especificidade, linearidade, precisão e exatidão.*

Palavras-chave: *naringenina, flavonóides, validação.*

Introdução

Flavonoides, polifenóis encontrados naturalmente em frutas e vegetais, possuem várias atividades farmacológicas. Naringenina é um flavonoide presente em muitas frutas cítricas e apresenta atividade antiinflamatória e antitumoral (RICE-E-

¹Estudante do Curso de Química - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG; e-mail: fabiane.ballotin@ufv.br; ²Professora do Curso de Bioquímica - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG; e-mail: rzatti@yahoo.com.br; ⁴ Professor do Curso de Farmácia - UNIVIÇOSA, Viçosa, MG; e-mail: camiloamaro@yahoo.com.br; ⁵ Professora do Curso de Farmácia - UNIPAC, UBÁ, MG; e-mail: vanessajoiafarmacia@gmail.com; ⁶ Professor do Curso de Farmácia - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, MG; e-mail: ttoledo@ufv.br

VANS, 2004). Com a finalidade de identificar e quantificar flavonoides em várias matrizes; por exemplo, sangue, urina, sucos de fruta, vários métodos analíticos têm sido desenvolvidos. Alguns desses métodos foram testados para a análise de naringenina em extratos vegetais e fluidos biológicos (HSIU et al., 2002; ISHII et al., 1997; RIBEIRO; RIBEIRO, 2007).

Este trabalho teve por objetivos desenvolver e validar método de doseamento para controle de qualidade de comprimidos e cápsulas de naringenina.

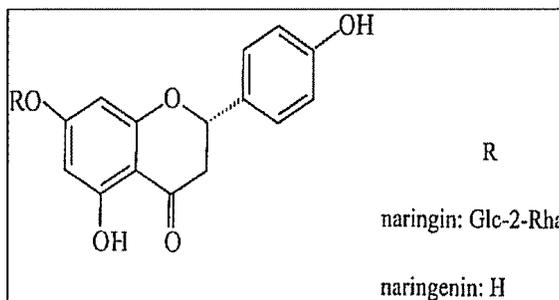


Figura 1- Estrutura química da naringenina.

Material e Métodos

Naringenina (Sigma Aldrich), metanol grau analítico, água ultrapura, comprimidos e cápsulas de naringenina (desenvolvidos na UFV).

A especificidade do método foi avaliada analisando-se comprimidos placebo e de naringenina. A linearidade foi realizada a partir de três curvas autênticas.

A precisão foi determinada realizando-se seis determinações (três injeções cada) a 100% da concentração teste (0,01 mg/mL). Foi considerado como limite máximo um valor de desvio-padrão relativo (DPR) de 2 % (BRASIL, 2003).

A exatidão foi determinada após avaliação da precisão, linearidade e especificidade. O limite de quantificação foi obtido a partir de diluições sucessivas (50,0 a 1,0 µg/mL) (BRASIL, 2003).

O ensaio de robustez foi determinado a partir da variação dos seguintes parâmetros: fluxo da fase móvel (0,7 – 1,1), fornecedor de solvente e temperatura do forno (20-30 °C). A quantificação do fármaco foi feita utilizando um sistema de CLAE Waters 2690 e detector DAD (fixado em 200-400 nm) (BRASIL, 2003).

As separações foram realizadas em uma coluna analítica Merck, Lichrospher ® 100, RP-18 (5 µm de granulometria, 250 × 4 mm ID). A fase móvel consistiu em metanol/água e eluição gradiente. As análises foram realizadas a 25 °C, fluxo 1 mL/min e volume de injeção de 25 µL.

Resultados e Discussão

O método de quantificação da naringenina por CLAE demonstrou linearidade, apresentando coeficiente de correlação (r) igual a 0,9989 e equação da reta: $Y = 5E+07X + 103326$ (Figura 2).

O método também se evidenciou preciso com DPR de 0,827%, apresentando boa separação entre o analito e os demais componentes das formulações. Os sinais cromatográficos referentes à naringenina apresentaram adequada resolução, com tempo de retenção de 6,36 minutos.

A exatidão foi demonstrada, pois os parâmetros precisão, linearidade e especificidade foram previamente estabelecidos. Foi considerada como limite de quantificação a concentração de 3,0 µg/mL, pois essa foi a mais baixa concentração em que o DPR era inferior a 2,0%. A variação dos parâmetros não al-

terou de forma significativa os valores de área da naringenina, demonstrando que o método é robusto.

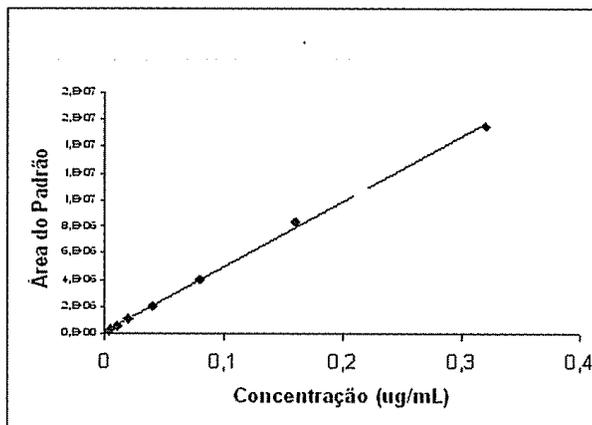


Figura 2 - Curva de calibração para análise da naringenina no intervalo de 0,004 a 0,32 mg/mL, referente à linearidade do método.

Conclusões

O método desenvolvido para a determinação quantitativa da naringenina por CLAE foi validado e evidenciou especificidade, linearidade, precisão e exatidão.

Referências

- RICE-EVANS, C. Flavonoids and isoflavones: absorptions, metabolism and bioactivity. *Free Radic. Biol. Med.*, v. 36, p. 827-828, 2004.
- HSIU, S. L. et al. Comparison of metabolic pharmacokinetics of naringin and naringenin in rabbits. *Life Sciences*, v. 70, p. 1481-1489, 2002.
- ISHII, K. et al. Determination of naringin and naringenin in

human urine by high-performance liquid chromatography utilizing solid-phase extraction. *Journal of Chromatography B*, v. 704, p. 299-305, 1997.

RIBEIRO, M. H. L.; RIBEIRO, I. A. Naringin and naringenin determination and control in grapefruit juice by a validated HPLC method. *Food Control*, v.19, p. 432-438, 2007.

BRASIL. Diretoria Colegiada da Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC no 899. 2003.