



## **DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO SIMULTÂNEA DE CLOROQUINA E COLCHICINA NANOENCAPSULADAS**

Manoel Rodrigues da Silva Neto, discente de graduação, Universidade Federal do Pampa,  
Campus Uruguai

Tamara Ramos Maciel, discente de pós-graduação, Universidade Federal de Santa Maria,  
Campus Santa Maria

Camila de Oliveira Pacheco, discente de graduação, Universidade Federal do Pampa, Campus  
Uruguai

Ana Cláudia Funguetto Ribeiro, discente de pós-graduação, Universidade Federal do Pampa,  
Campus Uruguai

Renata Bem dos Santos, discente de pós-graduação, Universidade Federal do Pampa, Campus  
Uruguai

Sandra Elisa Haas, docente, Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguai

[manoelrodrigues.aluno@unipampa.edu.br](mailto:manoelrodrigues.aluno@unipampa.edu.br)

A malária é uma infecção causada pelo parasita do gênero *Plasmodium* que pode levar à morte. A cloroquina (CQ) possui vários efeitos adversos e resistência. A colchicina (CC) tem sido estudada para o tratamento de diversas doenças, porém demonstra efeitos adversos graves, baixa biodisponibilidade oral e baixo índice terapêutico. Assim, a co-encapsulação dos fármacos CQ e CC em nanocápsulas inovadoras poderá melhorar características físico-químicas, farmacocinéticas e promover um efeito sinérgico dos fármacos para o tratamento da malária. Para a caracterização das nanocápsulas serão realizados o doseamento e taxa de associação dos fármacos, portanto sendo necessário um método analítico para quantificação da CQ e CC simultaneamente. Com isso, o objetivo foi desenvolver e validar um método analítico para quantificação simultânea de CQ e CC em uma formulação inovadora de nanocápsulas (NCCqcc). O método foi desenvolvido por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD), coluna Waters RP-18 de 5 $\mu$ m (4,6 mm x 300 mm), com pré-coluna (4 x 3 mm di). A fase móvel foi composta por acetonitrila, metanol e 0,01% de trietilamina (pH ajustado para 3 com ácido orto-fosfórico) (17:18:65), o comprimento de onda para detecção foi de 350 nm. O método foi validado quanto à seletividade, linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão, exatidão e robustez de acordo com as diretrizes do ICH e RDC N° 166, de 24 de julho de 2017 da ANVISA. A especificidade do método foi realizada utilizando a formulação branca (NCb) através do método de extração dos fármacos, os cromatogramas obtidos foram comparados com os que continham os fármacos. Para a linearidade, foram preparadas três curvas independentes em três dias diferentes, foi realizada análise de regressão linear e análise de variância. O limite de detecção e quantificação foram determinados. Para precisão, foram preparadas seis amostras de NCCqcc em três dias diferentes, foi realizada a análise da precisão intra-dia (seis amostras preparadas nos mesmos dias) e inter-dia (dezoito amostras preparadas nos três dias diferentes), os resultados foram expressos como desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (DPR%). Para a exatidão, três amostras com concentrações conhecidas de CQ e CC (80, 100 e 120%) foram adicionadas em soluções de NCb, os resultados foram expressos

como porcentagem de recuperação. A robustez do método foi avaliada alterando a vazão (0,9 e 1,1 mL.min<sup>-1</sup>) e temperatura do forno (31 °C), cada parâmetro foi alterado de forma independente, os resultados foram expressos pelo RSD%. Os excipientes da formulação demonstraram não interferir na quantificação da CQ e CC, através da comparação dos cromatogramas da NCb com NCcqc, no parâmetro de especificidade. O método proposto foi linear em uma faixa de 5 a 17,5 µg.mL<sup>-1</sup> para CQ e 1 a 12,5 µg.mL<sup>-1</sup> para CC, com regressão linear e sem desvio de linearidade para ambos os fármacos. O limite de detecção e de quantificação para CQ e CC indicou sensibilidade adequada para a quantificação dos fármacos. A precisão intra e inter-dia apresentaram RSD abaixo de 2% para ambos, indicando uma boa precisão do método para quantificar os fármacos co-encapsulados. A recuperação foi de 100% para CQ e CC, com um baixo RSD%, indicando a exatidão do método. O método foi robusto frente as alterações realizadas, demonstrando RSD menor que 2%, sem efeitos significativos na quantificação dos fármacos. O método proposto foi considerado seletivo, reprodutível, linear, preciso, exato, robusto para quantificar CQ e CC simultaneamente em nanocápsulas poliméricas.

**Agradecimentos:** CAPES, FAPERGS, CNPq, UFSM, UNIPAMPA.

**Palavras-chave:** Validação; nanocápsulas; CLAE-DAD.