

Desenvolvimento de método analítico para quantificação e extração do asiaticosídeo em pele de orelha de porco.

Bruno dos Santos Souza¹, Priscila Bianca Rodrigues da Rocha², Ricardo Neves Marreto³, Eliana Martins Lima³, Stephânia Fleury Taveira³.

1. Estudante de IC da Fac.de Farmácia - UFG; * bru.santossouza@gmail.com.

2. Mestre em Ciências da Saúde - Faculdade de Medicina - UFG

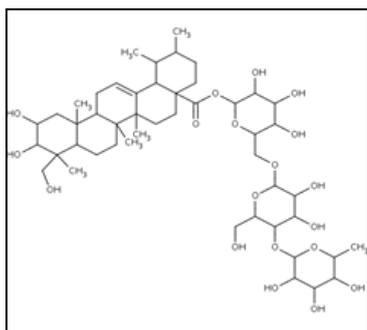
3. Pesquisador do Lab. de Tecnologia Farmacêutica, Faculdade de Farmácia - UFG, Goiânia/GO.

Palavras Chave: asiaticosídeo, extração, estrato córneo, pele remanescente, recuperação, validação analítica.

Introdução

O tratamento tópico de doenças da pele é algo que está ganhando bastante destaque. O asiaticosídeo (Figura 1), um composto triterpênico extraído da planta *Centella asiatica*, tem demonstrando ação em várias patologias cutâneas inclusive na esclerodermia^{1,2}. Entretanto, o desenvolvimento de uma formulação adequada se faz necessário para um tratamento tópico eficaz. Para avaliação destas formulações, um método analítico capaz de quantificar o fármaco nas diferentes camadas da pele é de fundamental importância.

Figura 1: Estrutura química do asiaticosídeo.



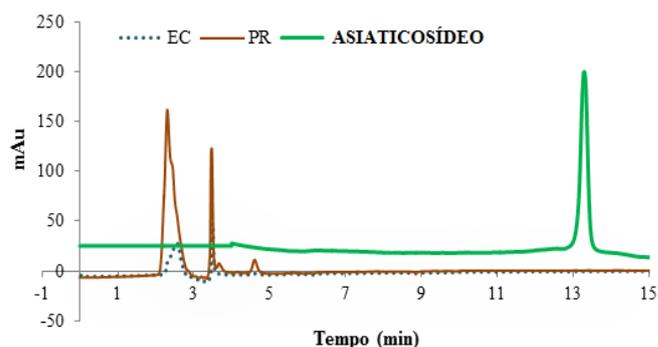
O objetivo deste trabalho é o desenvolvimento e a validação de uma metodologia analítica capaz de extrair e quantificar o asiaticosídeo no estrato córneo (EC) e do restante da pele (pele remanescente - PR) utilizando a pele de orelha de porco com modelo de membrana.

Resultados e Discussão

Utilizou-se cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-UV), com detecção em 206nm, coluna Zorbax Eclipse XDB-C8 (250 x 4,6mm, 5µm) e pré-coluna C8 (12,5 x 4,6mm) a 30°C. A fase móvel utilizada foi um gradiente de acetonitrila e 0,2% de ácido fosfórico na proporção de 20:80, 26:74 e 33:67 (v/v) nos tempos de 0 a 6, 6 a 12 e 12 a 15 minutos, respectivamente. O fluxo de fase móvel empregado foi de 1,0 mL/min e volume de injeção de 20 µL. Validou-se a metodologia de acordo com os parâmetros analíticos de linearidade, precisão, exatidão e sensibilidade (Limite de quantificação (LQ) e de detecção (LD)) e seletividade, recomendados pelo FDA³. Para avaliar a recuperação do asiaticosídeo nas camadas da pele, o EC e a PR foram contaminadas com o fármaco. Adicionou-se 5mL de metanol/água a 60°C (1:1), seguida de agitação em vórtex e banho maria (65°C) por 20 minutos para extração do fármaco.

A Figura 2 demonstra que não houve interferentes do EC e da PR no pico do asiaticosídeo, que apresentou um tempo de eluição de 13,3 minutos. O método mostrou-se linear no intervalo de concentração 3,0 e 60,0 µg/mL ($y = 8,4354x - 10,602$ e $R^2 = 0,9992$). O LD foi de 0,8 µg/mL e o LQ de 3,0 µg/mL. A recuperação do fármaco a partir do EC e da PR mostraram valores da ordem de 94,14% e 66,71%, respectivamente.

Figura 2. Cromatogramas obtidos após análise das matrizes biológicas (EC e PR) e do fármaco.



As condições do método de análise permitiram a quantificação do fármaco em um tempo menor quando comparado com métodos descritos na literatura⁴. O gradiente de concentração da fase móvel proporcionou completa separação dos picos (fator de separação (R_s) maior que 2). Além disso, o método de extração desenvolvido recuperou altas concentrações do fármaco em ambas camadas da pele. Estes achados reforçam a importância do desenvolvimento dessa metodologia, visto que, na literatura, não há relato da quantificação deste fármaco nas diferentes camadas da pele⁵.

Conclusões

A metodologia analítica proposta para quantificação do asiaticosídeo nas diferentes camadas da pele foi desenvolvida e validada. O método apresentou recuperação considerável do fármaco tanto no EC quanto na PR, mostrando-se viável para estudos de permeação cutânea *in vitro* para avaliação de formulações tópicas que contenham asiaticosídeo incorporado.

Agradecimentos

As agências de fomento FAPEG (005/2012), CNPq (483148/2011-3) e CAPES.

1- SESAKI, S. et al. Acta Derm Venereol. 52(2): 141-150, 1972.

2- GUSEVA, N.G. et al. Ter Arkh. 70(5): 58-61, 1998.

3- FDA, Q2B Validation of Analytical Procedures: Methodology Guidance for Industry, 1996.

4- RAFAMANTANANA, M.H. et al. J. Chromatography. 877: 2396-2402, 2009.

5- PAOLINO, D. et al. J. Control. Release, v. 162, n. 1, p. 143-51, 2012.