



B1

ISSN: 2595-1661

ARTIGO ORIGINAL

Listas de conteúdos disponíveis em [Portal de Periódicos CAPES](#)

## Revista JRG de Estudos Acadêmicos

Página da revista:

<https://revistajrg.com/index.php/jrg>

ISSN: 2595-1661

Revista JRG de  
Estudos Acadêmicos

### Proposta de validação para doseamento de coenzima Q10 (Ubicarenona) em matéria-prima por CLAE

Proposal for the validation of coenzyme Q10 (Ubiquinone) assay in raw materials by HPLC

DOI: 10.55892/jrg.v7i14.1172  
 ARK: 57118/JRG.v7i14.1172

Recebido: 19/05/2024 | Aceito: 02/06/2024 | Publicado *on-line*: 03/06/2024

#### Adriano Luis Heinen<sup>1</sup>

<https://orcid.org/0009-0006-2801-9485>

<http://lattes.cnpq.br/4345583631683203>

Centro Universitário União das Américas (UniAmérica) – Campus Biopark

E-mail: [adrianotoo@hotmail.com](mailto:adrianotoo@hotmail.com)

#### Tânia Cristina Führ<sup>2</sup>

<https://orcid.org/0009-0004-4986-3939>

<http://lattes.cnpq.br/0000000000000000>

Centro Universitário União das Américas (UniAmérica) – Campus Biopark

E-mail: [tania.fuhr@hotmail.com](mailto:tania.fuhr@hotmail.com)

#### Kelly Cristina Massarolo<sup>3</sup>

<https://orcid.org/0000-0002-6834-1771>

<http://lattes.cnpq.br/6589826002452203>

Centro Universitário União das Américas (UniAmérica) – Campus Biopark

E-mail: [kelly.massarolo@bpkedu.com.br](mailto:kelly.massarolo@bpkedu.com.br)

#### Olair Coradi Júnior<sup>4</sup>

<https://orcid.org/0000-0002-5032-3567>

<http://lattes.cnpq.br/2822438226859207>

Centro Universitário União das Américas (UniAmérica) – Campus Biopark

E-mail: [olair-junior@hotmail.com](mailto:olair-junior@hotmail.com)



### Resumo

A coenzima Q10 é uma molécula essencial produzida pelo corpo, desempenhando papéis importantes na proteção antioxidante, na respiração celular e na geração de energia (ATP). Além disso, ela oferece benefícios neuroprotetores, anti-inflamatórios e hepatoprotetores. A suplementação com coenzima Q10 é comumente usada para corrigir deficiências nutricionais, atender às necessidades específicas devido a condições médicas ou estilo de vida, e melhorar o desempenho físico ou cognitivo. A produção de coenzima Q10 como suplemento alimentar requer um controle de qualidade rigoroso para garantir a eficácia e a segurança do produto final, sendo vital a garantia da qualidade da matéria-prima utilizada. Para isso, a indústria de suplementos deve seguir as normas estabelecidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e compêndios como as Farmacopeias. A validação analítica é um processo fundamental que envolve a avaliação cuidadosa de um método por meio de testes experimentais para confirmar que ele atende aos requisitos

<sup>1</sup> Graduando em Farmácia pelo Centro Universitário União das Américas (UniAmérica) – Campus Biopark

<sup>2</sup> Graduanda em Farmácia pelo Centro Universitário União das Américas (UniAmérica) – Campus Biopark Endereço.

<sup>3</sup> Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos pela Universidade Federal do Rio Grande (FURG).

<sup>4</sup> Mestre em Química pela Universidade do Oeste do Paraná (UNIOESTE).

específicos para seu uso pretendido. Nesse contexto, este trabalho apresenta uma proposta de validação de um método analítico baseado na *United States Pharmacopeia* para determinar o teor de coenzima Q10 em matéria-prima. Esse processo envolve a avaliação de parâmetros como, precisão, exatidão e seletividade, seguindo a RDC N° 166/2017 da ANVISA, com o objetivo de adequar um método reprodutível para a quantificação precisa da Coenzima Q10 na matéria-prima, visando sua utilização na produção de suplementos.

**Palavras-chave:** Ubidecarenona. Validação analítica. Método analítico.

### **Abstract**

*Coenzyme Q10 is an essential molecule produced by the body, playing important roles in antioxidant protection, cellular respiration, and energy generation (ATP). Additionally, it offers neuroprotective, anti-inflammatory, and hepatoprotective benefits. Supplementation with coenzyme Q10 is commonly used to correct nutritional deficiencies, meet specific needs due to medical conditions or lifestyle, and improve physical or cognitive performance. The production of coenzyme Q10 as a dietary supplement requires strict quality control to ensure the efficacy and safety of the final product, making it vital to guarantee the quality of the raw material used. To this end, the supplement industry must follow the standards set by the Brazilian Health Regulatory Agency (ANVISA) and compendiums such as the Pharmacopoeias. Analytical validation is a fundamental process that involves the careful evaluation of a method through experimental tests to confirm that it meets the specific requirements for its intended use. In this context, this work presents a proposal for the validation of an analytical method based on the United States Pharmacopeia to determine the content of coenzyme Q10 in raw material. This process involves the evaluation of parameters such as precision, accuracy, and selectivity, following ANVISA's RDC No. 166/2017, with the aim of adapting a reproducible method for the precise quantification of Coenzyme Q10 in raw material, for use in supplement production.*

**Keywords:** Ubidecarenone. Analytical validation. Analytical method.

## **1. Introdução**

O desenvolvimento de um método analítico, a adaptação ou implementação de método conhecido, envolve um processo de avaliação que estime sua eficiência na rotina do laboratório sendo denominado de validação (AMARANTE et al., 2011; ANVISA, 2017).

Os métodos analíticos devem passar pelo processo de validação. No caso de um laboratório que esteja aplicando um método analítico sem a validação original, deve verificar a adequabilidade do método. É fundamental que todos os testes mencionados no registro ou nas especificações sejam executados conforme os métodos que foram previamente aprovados (ANVISA, 2022).

Vale ressaltar que, no Brasil para validação de métodos analíticos segue-se a RDC 166/2017, aplicável a métodos analíticos empregados em insumos farmacêuticos, medicamentos e produtos biológicos em todas as suas fases de produção. Baseado nisso, alguns parâmetros devem ser avaliados tais como: seletividade, linearidade, precisão, exatidão e robustez.

Os métodos analíticos compendiais não necessitam de validação formal, mas é essencial que, antes de serem empregados, haja comprovação documentada de sua eficácia nas condições operacionais do laboratório, aplicada a produtos

específicos, fórmulas ou materiais para os quais se destinam. Assim, a verificação representa um desafio para o sistema analítico, que deve ser enfrentado mediante a utilização de um protocolo claramente definido (MORETTO.; CALIXTO., 2016).

### Características da Coenzima Q10

Em 1957, Fredrick Crane e a sua equipe descobriram na mitocôndria do coração de boi, a coenzima Q10 (KUMAR et al., 2009; PRAKASH et al., 2010). Em 1958 conseguiram obter informação completa acerca da estrutura química, esse composto é uma quinona, semelhante a uma vitamina, lipossolúvel com uma estrutura próxima aos lipídios insaturados (LITTARRU; TIANO, 2010; BHAGAVAN; CHOPRA, 2007).

A coenzima Q10 quimicamente designada como 2,3-dimetoxi-5-metil-6-decaprenil-1,4-benzoquinona, uma substância conhecida como CoQ10, vitamina Q10, ubidecarenona ou ubiquinona, a Tabela 1 apresenta sua estrutura molecular que está presente em todos os tecidos do corpo humano (PRAKASH et al., 2010).

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas da Ubidecarenona

Propriedades	Ubidecarenona
Estrutura química	
Aparência	Pó
Outros nomes	Ubiquinona 10 CoQ10 Coenzima Q10
Cor	Amarelo a laranja escuro
Ponto de fusão	48-52°C
Fórmula Molecular	C <sub>59</sub> H <sub>90</sub> O <sub>4</sub>
Massa molar	863.34 g mol <sup>-1</sup>
CAS	303-98-0
Solubilidade	Insolúvel em água, solúvel em solventes orgânicos como óleos vegetais e ésteres
Nomenclatura IUPAC	2-[(2E,6E,10E,14E,18E,22E,26E,30E,34E)-3,7,11,15,19,23,27,31,35,39-decamethyltetraconta-2,6,10,14,18,22,26,30,34,38-decaenyl]-5,6-dimethoxy-3-methylcyclohexa-2,5-diene-1,4-dione

Fonte: Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha (2023).

A estrutura deriva da conjugação do anel de benzoquinona com uma cadeia hidrofóbica de isoprenóides, todos eles em configuração trans e com uma ligação dupla. Nos humanos a Coenzima Q10 apresenta uma cadeia com 10 unidades de isoprenos. A obtenção da coenzima pode ser por via exógena com a ingestão de

alimentos e por via endógena pelo ciclo mevalonato (HERSHEY et al., 2007; BENTINGER et al., 2010).

A forma oxidada da coenzima Q10 é denominada ubiquinona, enquanto a forma reduzida é conhecida como ubiquinol. A coenzima Q10 é o único antioxidante lipossolúvel que o organismo é capaz de sintetizar internamente. Quando se encontra na forma reduzida, CoQH<sub>2</sub>, ou ubiquinol, ela desempenha um papel importante na inibição da oxidação de proteínas e DNA. No entanto, seu efeito mais amplamente estudado é sua capacidade de prevenir a peroxidação lipídica. O ubiquinol age como um inibidor da peroxidação de lipídios presentes na membrana celular e também na circulação, especialmente nos lipídios lipoproteicos (LITARRU et al., 2007).

Embora o metabolismo humano produza coenzima Q10, também é possível adquiri-la através da alimentação, incluindo alimentos como amêndoas, nozes, espinafre, carne, aves, peixes, sardinhas e amendoins (HERSHEY et al., 2007). No entanto, a ingestão destes alimentos não é suficiente para suprir a necessidade do organismo, devido a baixa absorção da coenzima Q10 e ao alto peso molecular e baixa solubilidade em água (PEPE et al., 2007). Portanto, a suplementação torna-se necessária para manter os níveis adequados dessa substância (ALVARENGA., 2020).

Os suplementos alimentares contendo coenzima Q10 surgem para complementar a dieta, porém necessitam de uma análise minuciosa em relação à sua segurança e aos eventuais riscos para a saúde humana (MOURA et al., 2023). No Brasil, a ubidecarenona está disponível com várias marcas comerciais diferentes (Vinocard Q10 - Marjan Farma; CoQ10 - BIOVEA; CoQ10 - Doctor's Best; CoQ10 - Newton-Everett Biotech, Coenzima Q10 - Catarinense), formas farmacêuticas (comprimidos revestidos, cápsulas, cápsulas de gel, solução para preparo instantâneo) e doses (10, 30, 50, 60, 100, 400, 600 mg), sendo encontrada em drogarias, farmácias de manipulação, sites e lojas de produtos naturais.

Segundo a Instrução Normativa N° 28 (ANVISA, 2018), a qual define os limites de substâncias bioativas que devem ser fornecidos pelos suplementos alimentares, na recomendação diária de consumo e por grupo populacional, regulamenta a Coenzima Q10 com o mínimo de 200 mg para pessoas com idade  $\geq$  19 anos e reforça que este produto não deve ser consumido por gestantes, lactantes e crianças.

### **Quantificação alimentar de Coenzima Q10**

Para assegurar que a quantidade específica de Coenzima Q10 contida na formulação esteja dentro dos limites estabelecidos e consistente com a dose pretendida, é necessário métodos analíticos confiáveis para tal objetivo. Existem vários procedimentos disponíveis na literatura científica para quantificar a coenzima Q10 em amostras de plasma (FERREIRO-BARROS et al., 2012), filmes orodispersíveis (SILVA., 2019), em matérias-primas e suplementos dietéticos (LUNETTA et al., 2008).

Existem métodos farmacopeicos (tabela 2) para a quantificação de Q10 em amostras de matéria prima e cápsula gelatinosa mole. A abordagem amplamente utilizada envolve o emprego de equipamentos de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em fase reversa, combinados com detectores eletroquímicos ou ultravioleta (UV). A maioria dos métodos requer uma etapa única de preparação da amostra, que consiste na diluição com 1-propanol, seguida pela injeção direta da amostra no sistema de CLAE (LITARRU et al., 2004).

Tabela 2. Métodos oficiais para quantificação de coenzima Q10

PARÂMETROS	USP - MATÉRIA PRIMA <sup>1</sup>	BP - MATÉRIA PRIMA <sup>2</sup>	USP - CÁPSULA GELATINOSA MOLE <sup>1</sup>
Fase móvel	Metanol : Etanol Anidro (65:35)	Metanol : Etanol Anidro (80:20)	Acetonitrila, Tetrahidrofurano e Água (55:40:5)
Diluyente	Etanol Anidro	Etanol Anidro	n-hexano e Etanol Anidro (5:2)
Fluxo	1 mL/ min – ajustar fluxo para atingir tempo de retenção	1,7 mL/min	2,5 mL/min
Detector	UV/VIS 275 nm	UV/VIS 275 nm	UV/VIS 275 nm
Volume de injeção	5 µL	10 µL	15 µL
Temperatura do forno	35 °C	30 °C	Ambiente
Coluna cromatográfica	C18 - 4,6mm x 150 mm x 5 µm	C18 – 4,6mm X 200 mm X 5 µm	C18 – 8 mm X 100 mm X 5 µm
Tempo de corrida	20 Minutos	2 x o tempo de retenção da Ubiquinona (aprox. 28 minutos)	20 Minutos

Fonte: <sup>1</sup>- *United States Pharmacopeia*; <sup>2</sup>- *British Pharmacopeia* (2023).

Para a utilização de detectores ultravioleta, é necessária uma preparação mais elaborada da amostra, que inclui etapas de extração com solventes orgânicos como hexano, hexano/metanol ou etanol, seguida da concentração da amostra antes da injeção no sistema de CLAE (FERREIRO-BARROS et al., 2012).

## 2. Validação de método analítico

A aplicação de um método analítico requer a validação prévia de acordo com os protocolos estipulados por entidades competentes. A Resolução N° 166, datada de 24 de julho de 2017 (ANVISA, 2017), delinea os critérios e parâmetros essenciais que devem ser seguidos para a validação de métodos analíticos (figura 1).

Figura 1. Parâmetros de validação de método analítico.



Fonte: elaborado pelo autor, 2024.

A validação de métodos já descritos na Farmacopeia é essencial para garantir a qualidade e segurança de produtos farmacêuticos. Isso se deve à influência de variáveis como equipamentos, colunas, reagentes e ambiente na precisão das análises. A falta de validação específica pode resultar em resultados imprecisos, afetando a qualidade dos produtos. Portanto, adaptar os métodos à realidade de cada laboratório é crucial para obter dados confiáveis e assegurar a integridade dos produtos. Para realizar uma validação, é essencial demonstrar, por meio de critérios específicos, que o método analítico previamente validado possui as propriedades necessárias para gerar resultados com a qualidade exigida (ANVISA, 2017).

A Resolução N° 166, datada de 24 de julho de 2017 (ANVISA, 2017) estabelece os requisitos para validação de processos utilizados na indústria farmacêutica. As principais etapas da validação seguem a seguir.

## Parâmetros de validação

### *Linearidade*

A comprovação da linearidade de um método requer evidenciar sua habilidade de gerar respostas analíticas que variam de forma direta e proporcional à concentração de um analito na amostra. Para a determinação da linearidade, é necessário empregar pelo menos 5 (cinco) níveis distintos de concentração da Solução Padrão de Referência (SQR), preparadas no mínimo em triplicata (ANVISA, 2017).

A análise da linearidade requer que todos os cálculos sejam conduzidos com base em conjuntos de dados consistindo de concentrações reais e respostas analíticas individuais. Para a avaliação da linearidade, os seguintes elementos precisam ser apresentados:

- Exibição gráfica das respostas em relação às concentrações do analito.
- Elaboração de um gráfico de dispersão dos resíduos, acompanhado por uma análise estatística desses resíduos.
- Dedução da equação da reta de regressão de  $y$  em  $x$ , utilizando o método dos mínimos quadrados.
- Avaliação da relação linear entre as variáveis através dos coeficientes de correlação ( $r$ ) e de determinação ( $r^2$ ).
- Análise da significância do coeficiente angular.
- Exploração da homoscedasticidade dos dados para assegurar a aplicabilidade do modelo.

Nas análises estatísticas, é essencial adotar um nível de significância de 5% (cinco por cento). Além disso, o coeficiente de correlação deve ser superior a 0,990, e a significância do coeficiente angular deve ser verificada para confirmar que é substancialmente distinto de zero (ANVISA, 2017).

### *Precisão*

A precisão caracteriza a capacidade de reprodução das medidas, em outras palavras, a proximidade entre os resultados obtidos sob as mesmas condições. Tipicamente, aferir a precisão de uma medida é facilmente alcançado ao repetir a mensuração em réplicas da amostra (SKOOG et al., 2006).

Precisão pode ser realizada por intermédio da utilização de critérios de repetibilidade, precisão intermediária ou reprodutibilidade. A evidenciação da precisão demanda a avaliação da dispersão dos resultados, efetuada por meio do cálculo do

desvio padrão relativo (DPR) em relação à série de medições. Este cálculo é derivado seguindo a fórmula " $DPR = (DP/CMD) \times 100$ ", em que DP denota o desvio padrão e CMD corresponde à concentração média determinada (ANVISA, 2017).

A avaliação da repetibilidade deve aderir aos seguintes critérios:

I - Examinar as amostras nas mesmas condições operacionais, com o mesmo analista e equipamento, em uma única análise consecutiva.

II - Empregar, no mínimo, 9 (nove) determinações, cobrindo a faixa linear do método analítico, ou seja, 3 (três) concentrações distintas: baixa, média e alta, com 3 (três) replicatas em cada nível, ou 6 (seis) replicatas na concentração de 100% (cem por cento) do teste, preparadas individualmente (ANVISA, 2017).

### *Exatidão*

A verificação da exatidão de um método analítico deve se dar por meio da avaliação do grau de concordância entre os resultados individuais obtidos pelo método em estudo e um valor reconhecido como verdadeiro. Para essa finalidade, a exatidão deve ser examinada com base em, pelo menos, 9 (nove) determinações, abrangendo a faixa linear do método analítico, ou seja, 3 (três) concentrações distintas: baixa, média e alta, com 3 (três) réplicas em cada nível. As amostras utilizadas para a avaliação da exatidão devem ser preparadas de maneira independente e, é possível empregar soluções diluídas provenientes da mesma solução matriz da Solução Padrão de Referência (SQR) (ANVISA, 2017).

### *Seletividade*

A seletividade dos métodos analíticos deve ser evidenciada pela capacidade de identificar ou quantificar o analito desejado, mesmo na presença de outros componentes da amostra, como impurezas, diluentes e componentes da matriz. Em métodos cromatográficos, a pureza do sinal do analito deve ser confirmada. Nos métodos de identificação, é necessário demonstrar a capacidade de obter um resultado positivo para o analito na amostra e um resultado negativo para outras substâncias presentes na amostra, utilizando a SQR para comparação com a resposta do analito (ANVISA, 2017).

### *Faixa de trabalho*

Deve ser estabelecida com base nos estudos de linearidade, juntamente com os resultados de precisão e exatidão, sendo dependente da aplicação pretendida. Considerando as seguintes faixas de trabalho para teor de 80% (oitenta por cento) a 120% (cento e vinte por cento)(ANVISA, 2017).

### *Robustez*

Parâmetro avaliado durante o desenvolvimento do método analítico, indicando sua capacidade de resistir a pequenas e deliberadas variações nas condições analíticas. Para métodos quantitativos, o impacto das variações propostas nos resultados obtidos deve ser avaliado utilizando os mesmos critérios aplicados à exatidão. Para métodos qualitativos, deve ser verificado se as variações propostas interferem na resposta analítica. (ANVISA, 2017).

## Principais problemas na validação dos métodos oficiais

A validação de métodos é um processo crítico para garantir a confiabilidade e a precisão dos métodos analíticos utilizados na indústria farmacêutica.

Durante a validação, podem surgir diversos problemas que precisam ser identificados e mitigados para assegurar a integridade dos resultados, conforme descrito Tabela 3. Alguns dos principais problemas encontrados incluem inadequações nos procedimentos de amostragem, erros na calibração dos equipamentos, falta de robustez do método diante de variações operacionais, além de desafios relacionados à seletividade e sensibilidade do método.

Tabela 3. Parâmetros de validação e possíveis causas.

Parâmetro de Validação	Problema	Possíveis Causas	Impacto
<b>Linearidade</b>	Não linearidade nos dados de calibração	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Diluição inadequada das amostras ou preparação inadequada das soluções padrão.</li> <li>- Variações nas condições experimentais durante a análise, como temperatura ou pH.</li> <li>- Concentração da amostra, impactando na avaliação da resposta do detector.</li> </ul>	Dificuldade em estabelecer uma relação linear entre a concentração do analito e a resposta analítica, levando a resultados imprecisos e não confiáveis.
	Dependência do histórico nos dados de calibração	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Variações na ordem de adição de reagentes ou amostras durante a análise.</li> <li>- Tempo insuficiente para estabilização dos sinais de medição.</li> <li>- Falta de homogeneidade nas amostras ou soluções padrão.</li> </ul>	Dificuldade em estabelecer uma relação linear entre a concentração do analito e a resposta analítica, levando a resultados imprecisos e não confiáveis.
<b>Precisão</b>	Alta variabilidade nos resultados das replicatas	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Inconsistência na técnica de medição ou pipetagem.</li> <li>- Contaminação das amostras durante o manuseio.</li> <li>- Flutuações nas condições ambientais, como temperatura e umidade.</li> </ul>	Resultados imprecisos e dificuldade em avaliar a confiabilidade do método.
	Viés sistemático nos resultados das replicatas	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Calibração inadequada dos instrumentos de medição.</li> <li>- Erros na preparação ou armazenamento dos reagentes.</li> <li>- Problemas na técnica de amostragem ou manipulação das amostras.</li> </ul>	Dificuldade em detectar e corrigir inconsistências sistemáticas nos resultados, levando a uma avaliação incorreta da precisão do método.
<b>Exatidão</b>	Resultados sistematicamente diferentes do valor de referência	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Erros na padronização das soluções padrão ou na preparação das amostras.</li> <li>- Contaminação cruzada entre amostras durante a análise.</li> <li>- Variações na sensibilidade ou linearidade dos</li> </ul>	Pode levar a conclusões erradas sobre a exatidão do método e comprometer a confiabilidade dos resultados.

		instrumentos ao longo do tempo.	
<b>Seletividade</b>	Interferências de componentes da matriz ou impurezas nas amostras	- Baixa especificidade dos reagentes utilizados no método. '- Presença de substâncias na amostra que cruzam reagem com o analito ou com os reagentes, gerando sinais falsos. '- Problemas com a limpeza ou preparação das amostras, levando à contaminação cruzada.	Pode levar a resultados imprecisos e não confiáveis devido à presença de interferências que afetam a especificidade do método.
	Falta de especificidade do método para o analito de interesse	- Reagentes com reatividade cruzada com outros componentes da amostra. - Interferências de compostos estruturalmente semelhantes ao analito. - Ausência de etapas de purificação ou pré-tratamento das amostras.	Dificuldade em distinguir o analito de outros componentes da amostra, resultando em resultados imprecisos ou não confiáveis.
<b>Robustez</b>	Variação significativa nos resultados devido a mudanças nas condições experimentais	- Falta de controle sobre as variações de temperatura, pH, tempo de incubação, etc. - Erros na preparação de reagentes ou amostras. - Falta de manutenção regular dos equipamentos.	Resultados inconsistentes e não reprodutíveis, comprometendo a confiabilidade do método
	Sensibilidade do método a pequenas variações de procedimento	- Falta de treinamento adequado dos operadores.	Falta de robustez pode levar a variações significativas nos resultados, dificultando a validação do método.
<b>Faixa de trabalho</b>	Faixa inadequada para a aplicação do método	- Seleção inadequada das concentrações para o estudo de faixa de trabalho. - Não considerar a variabilidade natural do método. - Falta de repetibilidade na preparação das amostras.	Resultados fora da faixa de trabalho não confiáveis, levando a interpretações incorretas sobre a validade do método.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

### 3. Resultados e Discussão

#### Procedimento proposto para validação de método de Coenzima Q10

##### *Sistema cromatográfico*

A fase móvel consistirá em uma mistura de Metanol e Etanol Anidro na proporção de 65:35, respectivamente. Utilizado uma coluna C18, com 150 mm de comprimento, 4,6 mm de diâmetro e 5 µm de tamanho de partícula. As condições de operação com fluxo de 1 mL min<sup>-1</sup> com o ajuste do fluxo para atingir tempo de retenção de 11 minutos, temperatura de forno de 35 °C e tempo de corrida de 20 minutos.

### Padrões e amostras

O preparo da solução padrão USP Ubidecarenona (SQR) na concentração de  $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$  em etanol anidro deve ser realizada pelo aquecimento a  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  por até 2 minutos, se necessário, para assegurar a completa solubilização. Já para o preparo da solução amostra a ser empregada no teste de precisão, preparar a solução de  $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$  em etanol anidro, aquecendo a  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  por até 2 minutos para assegurar a completa solubilização.

Para validação analítica do método, deverão ser seguidos todos os parâmetros, conforme preconizado na RDC 166/17 e para isso inserido o parâmetro, descrição e critérios para aprovação, conforme a tabela a seguir.

Tabela 4 – Esquema de realização de testes para avaliação dos parâmetros de validação analítica do método alternativo proposto.

Parâmetros de Validação	Descrição	Procedimento	Critérios para aprovação do IFA de Coenzima Q10
<b>Linearidade</b>	Avalia a relação entre concentração e resposta analítica.	O IFA de coenzima Q10 deve demonstrar uma relação linear entre a concentração do analito e a resposta analítica. Devem ser utilizadas no mínimo 5 concentrações diferentes da solução padrão de referência (SQR). Esta avaliação é obtida a partir de três curvas analíticas, cada uma com cinco níveis de concentração crescentes de $0,40 \text{ mg mL}^{-1}$ , $0,45 \text{ mg mL}^{-1}$ , $0,50 \text{ mg mL}^{-1}$ , $0,55 \text{ mg mL}^{-1}$ e $0,60 \text{ mg mL}^{-1}$ , dentro da faixa de 80-120%.	Ajuste linear com coeficiente de correlação (r) superior a 0,990.
<b>Precisão</b>	Avalia a proximidade entre os resultados obtidos em ensaios repetidos.	A repetibilidade deve ser avaliada com no mínimo 6 nível 100% nível de concentração. Precisão Intermediária: Repetir a análise em pelo menos dois dias diferentes, por operadores distintos, com resultados semelhantes aos da repetibilidade.	AOAC Internacional -Appendix f -desvio entre as amostras RSD 1,3%
<b>Exatidão</b>	Avalia o grau de concordância entre os resultados do método e um valor aceito como verdadeiro.	A exatidão deve ser verificada com pelo menos 9 determinações em 3 concentrações diferentes, cada uma com 3 réplicas, com as concentrações de: $0,40$ , $0,50$ e $0,60 \text{ mg mL}^{-1}$ , correspondendo respectivamente aos níveis 80 %, 100 % e 120 %, com três réplicas em cada nível.	Resultados dentro de uma margem aceitável de erro, geralmente expressa como porcentagem de recuperação (%). AOAC Internacional -Appendix f -desvio entre as amostras RSD 1,3%, Concentração entre 98 -102%

<b>Seletividade</b>	Avalia a capacidade do método de identificar ou quantificar o analito de interesse na presença de outros componentes da amostra.	O método deve demonstrar a capacidade de identificar ou quantificar a coenzima Q10 de forma inequívoca, mesmo na presença de impurezas, diluentes e componentes da matriz da amostra.	Capacidade de identificar ou quantificar a coenzima Q10 especificamente, mesmo na presença de outros componentes da amostra. Testes de interferência devem ser realizados. Resolução $\geq$ que 1,5
<b>Robustez</b>	Avalia a capacidade de manter sua performance frente a variações nas condições experimentais.	Devem ser realizados testes de robustez, avaliando variações nas condições experimentais, como temperatura, pH, tempo de incubação, entre outros. O método deve demonstrar que pequenas variações nessas condições não afetam significativamente seus resultados.	O método deve demonstrar que pequenas variações nessas condições não afetam significativamente seus resultados. AOAC Internacional -Appendix f -desvio entre as amostras RSD 1,3%, Concentração entre 98 -102%
<b>Faixa de trabalho</b>	Define o intervalo de concentrações no qual o método apresenta respostas lineares, precisas e exatas.	A faixa de trabalho deve ser determinada através da linearidade, precisão e exatidão do método dentro dos limites estabelecidos	De 80% a 120% da concentração nominal

Fonte: elaborado pelo autor, 2024. Adaptado de Brasil, 2017.

#### 4. Considerações Finais

Avaliar criteriosamente se o método atende aos critérios de precisão, exatidão, linearidade, seletividade, conforme especificado na proposta de validação. Se estes dados estão em conformidade com diretrizes regulatórias, com as Boas Práticas de Laboratório (BPL) ou as Boas Práticas de Fabricação (BPF), dependendo do contexto.

O método proposto na pesquisa se justifica pela sua aplicabilidade científica e se mostrou possível de ser validado frente as exigências da RDC 166/17.

## Referências

ALVARENGA, L. F. (2020). Os efeitos da suplementação de coenzima q10 na terapêutica da insuficiência cardíaca: uma revisão bibliográfica. 15p. Monografia. Centro Universitário De Brasília – UNICEUB, 2020.

AMARANTE JR., O. P.; CALDAS, E. P. A.; BRITO, N. M.; SANTOS, T. C. R. dos; VALE, M. L. B. F. Validação de métodos analíticos: uma breve revisão. Cadernos de Pesquisa, Disponível em: <https://docplayer.com.br/39827741-Validacao-de-metodos-analiticos-uma-breve-revisao.html>. Acesso em 27 ago. 2023.

BENTINGER M, TEKLE M, DALLNER G. **Coenzyme Q – Biosynthesis and functions**. Biochemical and Biophysical Research Communications.; 396:74-5. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional De Vigilância Sanitária – (ANVISA). **Resolução Da Diretoria Colegiada - RDC Nº 166, de 24 de julho de 2017**. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 24 de jul. de 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional De Vigilância Sanitária – (ANVISA). **Instrução Normativa - IN Nº 28, de 26 de julho de 2018**. Estabelece as listas de constituintes, de limites de uso, de alegações e de rotulagem complementar dos suplementos alimentares. Diário Oficial da União nº 144, Poder Executivo, Brasília.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional De Vigilância Sanitária – (ANVISA). **Resolução RDC Nº 658, de 30 de março de 2022**. Dispõe sobre as Diretrizes Gerais de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 30 de mar. de 2022.

BHAGAVAN, H. N., & CHOPRA, R. K.. **Plasma coenzyme Q10 response to oral ingestion of coenzyme Q10 formulations**. Mitochondrion, 7 Suppl, S78–S88. 2007.

FERREIRO-BARROS CC, SUGAWARA EK, SANCHES LR. **Determination of a method for extraction of coenzyme Q10 in human plasma**: optimization of the use of surfactants and other variables. Einstein (Sao Paulo);10,203–8. 2012.

HERSHEY AD, POWERS SW, VOCKELL AL, LECATES SL, ELLINOR PL, et al. **Coenzyme Q10 deficiency and response to supplementation in pediatric and adolescent migraine**. Headache.;47:73–80. 2007.

KUMAR, A., KAUR, H., DEVI, P. & MOHAN, V. . **Role of coenzyme Q10 (CoQ10) in cardiac disease, hypertension and Meniere-like syndrome**. Pharmacol Ther. 124(3):259-68. 2009.

LITARRU, G.P.; MOSCA, F. ; FATTORINI, D.; BOMPADRE S.; BATTINO, M. **Assay of Coenzyme Q10 in Plasma by a Single Dilution Step**. Methods in Enzymology, Academic Press, Volume 378, 2004.

LITARRU GP, TIANO L. **Bioenergetic and antioxidante properties of coenzyme Q10**: Mol Biotecnologia. Setembro de 2007;37(1):31-7. doi: 10.1007/s12033-007-0052-y.; Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17914161/>. Acesso em 30 ago. 2023.

LITARRU, G.P.; TIANO, L. **Clinical aspects of coenzyme Q10: An update**. Nutrition, v. 26, p. 250-254, 2010.

LUNETTA S., et al.; **Determinação do Conteúdo de Coenzima Q10 em Matérias-Primas e Suplementos Dietéticos por Cromatografia Líquida de Alto Desempenho-UV**: Estudo Colaborativo, Journal of AOAC INTERNATIONAL, Volume 91, Edição 4, 1 de julho de 2008, Páginas 702– 708, Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jaoac/91.4.702>. Acesso em 06 ago. 2023.

MERCK KGAA. Coenzyme Q10. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/product/sigma/c9538>. Acesso em 28 ago. 2023.

MOURA, E. K. S.; SILVA E.C. O.; FIDELIX, M. S. P. **Suplementação nutricional da coenzima Q10: dose terapêutica, custo e benefício**. Brazilian Journal of Development, Curitiba, v.9, n.5, p. 14889-14898., 2023.

MORETTO, L. D.; CALIXTO, J. **Guia de Qualificações e Validações**, Guia Sindusfarma para a Indústria Farmacêutica, volume 17. 2016.

PEPE. S, MARASCO S, HAAS S, SHEERAN F, KRUM H, ROSENFELDT F. **Coenzyme Q10 in cardiovascular disease**. Mitochondrion.; 7:154-13. 2007.

PRAKASH S, SUNITHA J, HANS M. **Role of coenzyme Q10 as a antioxidant and bioenergizer in periodontal diseases**. Indian journal of pharmacology.; 42(6):334-3 . 2010.

SILVA, P. J. L. C. da. **Desenvolvimento de films orodispersíveis contendo diferentes insumos farmacêuticos ativos: controle de qualidade e estudos de estabilidade**. 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufjf.br/jspui/handle/ufjf/11795>. Acesso em: Acesso em 20 ago. 2023.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**, Editora Thomson, tradução da 8ª edição, 2006.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIA, USP 44. United States Pharmacopeial Convention Inc, Rockville, 2021.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. **Dietary Supplement Monographs, Ubidecarenone**. USP-NF. Rockville, MD: United States Pharmacopeia; 2023. Disponível em: [https://doi.org/10.31003/USPNF\\_M87250\\_04\\_01](https://doi.org/10.31003/USPNF_M87250_04_01). Acesso em 14 ago. 2023.