

Nanocápsulas de núcleo lipídico (LNC) são sistemas coloidais vesiculares constituídos por uma parede polimérica e um núcleo formado por um tensoativo de baixo EHL e um triacilglicerol. O uso de marcadores fluorescentes encapsulados a nanocápsulas é especialmente útil em estudos biológicos *in vivo* e *in vitro*, pois permite a visualização dos sistemas em estudos de microscopia, bem como o seu doseamento utilizando métodos fluorimétricos. Recentemente, nosso grupo desenvolveu LNC marcadas com polímero fluorescente, poli(ϵ -caprolactona) conjugada a rodamina B (PCL-RB). O objetivo deste estudo é validar o método de quantificação por fluorimetria do conjugado PCL-RB e quantificá-lo em formulação de nanocápsulas de núcleo lipídico. A deposição interfacial de poli(ϵ -caprolactona) (PCL) foi o método utilizado para a preparação das LNC, que contêm em sua composição 1 mg/mL de PCL-RB e 9 mg/mL de PCL. A distribuição do tamanho de partículas foi avaliada por difratometria de laser, apresentando-se unimodal, com diâmetro $d_{4,3}$ de 279 nm. Quanto à validação, a faixa de linearidade foi validada entre 50 e 1000 $\mu\text{g/mL}$ com coeficiente de correlação de 0,9979 para as curvas preparadas com acetonitrila e 0,9952 para curvas preparadas com clorofórmio (Varian Cary Eclipse, utilizando cubeta de quartzo quadrada, excitação em 557 nm, emissão em 571 nm e slits de excitação e emissão de 5 nm). Os coeficientes de variação intra-dia e inter-dia foram menores do que 2%. O método se mostrou seletivo e específico para a quantificação de PLC-RB quando comparada com uma amostra de LNC preparada exclusivamente com PLC. Para validar a exatidão foram realizados quatro diferentes protocolos de extração para a recuperação de PCL-RB a partir da suspensão de LNC: 1) LNC contendo PCL-RB (0,5 mL) foram dissolvidas com clorofórmio (1,0 mL), sob agitação em vórtex (5 min), seguido de centrifugação (5 min a 5290 $\times g$). O sobrenadante foi analisado por fluorimetria. 2) LNC contendo PCL-RB foram dispersas em acetonitrila, seguindo-se o mesmo protocolo descrito no item 1. 3) LNC foram dispersas em etanol seguindo-se o protocolo descrito em 1, variando-se o tempo de agitação (2 min) e a centrifugação (15 min a 7379 $\times g$). O sobrenadante foi analisado por fluorimetria e o sedimento, dissolvido em clorofórmio (1,0 mL) sob agitação em vórtex (2 min), ultrassom (10, 15, 30, 45 e 60 min), centrifugação (5 min a 7379 $\times g$), foi analisado por fluorimetria. 4) LNC foram dispersas em etanol seguindo o protocolo descrito no item 3, substituindo clorofórmio por acetonitrila. Os maiores percentuais de recuperação foram obtidos com o método 4 (73,05%), seguido pelos métodos 3 (70,42%), 1 (56,92%) e 2 (2,95%), demonstrando que a precipitação das LNC e posterior dissolução do sedimento permitem uma maior recuperação em comparação com a extração de PCL-RB com clorofórmio ou acetonitrila a partir da suspensão. O tempo de ultrassom teve pouca influência sobre as quantidades recuperadas. A curva analítica empregando-se acetonitrila foi selecionada para a continuidade dos estudos. No momento, 2 novos lotes de LNC contendo respectivamente 1 e 10 mg/mL de PCL-RB estão em análise.