

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE COMPRIMIDOS DE ENROFLOXACINO COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE URUGUAIANA - RS

Josiane Strasburg¹

Andressa Tassinari da Silva²

Gabriela Rossi Brabo³

Lyana Feijó Berro⁴

Fabiana Ernestina Barcellos Da Silva⁵

Resumo:

Medicamentos de uso veterinário devem cumprir com as mesmas exigências de qualidade solicitada para os medicamentos de uso humano. Entretanto, poucos relatos na literatura avaliam a qualidade de formas sólidas orais destinadas a uso veterinário, incluindo testes básicos relacionados às características físicas de comprimidos ou aqueles relacionados à determinação do teor e perfil de dissolução. Para fármacos antimicrobianos, estes parâmetros de qualidade tornam-se cruciais já que desvios podem acarretar subdoses e ineficácia do tratamento, com possibilidade de geração de bactérias resistentes. O enrofloxacino (ENRO) (1-ciclopropil-7-[4-etil-1-piperozinil]-6-fluoro-1,4-diidro-4-oxo-3-quinolino-ácido carboxílico) é um antimicrobiano de uso exclusivo veterinário pertencente à classe das fluorquinolona de 2ª geração e comercializado nas formas farmacêuticas de uso oral (comprimido e solução) e uso parenteral (injetável). A avaliação da qualidade desta forma farmacêutica é particularmente importante, já que desvios podem acarretar problemas de absorção e perfil de distribuição do fármaco, principalmente para aqueles que têm baixa solubilidade em meio aquoso, como o ENRO. Desta forma, este estudo tem por objetivo avaliar a qualidade de comprimidos de ENRO de cinco diferentes laboratórios (A - E) e comercializados na cidade Uruguaiana (RS) nos seguintes testes: aspecto visual, peso médio, dureza, friabilidade, desintegração e teor. Os testes foram realizados de acordo com a Farmacopéia Brasileira 5ª edição (2010). A determinação do teor foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). As amostras cumpriram com os quesitos de qualidade avaliados, com exceção do teste de friabilidade, o qual estava fora dos parâmetros para as amostras D e E. Na determinação do teor foi considerada a faixa de 90-110% como aceitável. Esta faixa contempla a maioria das especificações para formas farmacêuticas sólidas de uso oral e liberação imediata. De acordo com esta faixa de aceitação, as amostras encontram-se dentro dos limites preconizados para o teor. Desta forma, o presente estudo permitiu avaliação preliminar da qualidade de comprimidos de ENRO comercializados na cidade de Uruguaiana (RS), sendo que estudos posteriores devem ser conduzidos no

sentido de avaliar o perfil de dissolução das formulações disponíveis, com o objetivo de determinar a equivalência farmacêutica em comparação com o medicamento inovador/referência (Baytril®, Bayer). De maneira geral, a avaliação de antimicrobianos de uso veterinário contribui na determinação da eficácia terapêutica e segurança destes produtos, evitando sobredoses e diminuindo a possibilidade de resistência bacteriana tanto em animais quanto nos seres humanos.

Palavras-chave: Enrofloxacino, antimicrobiano, qualidade

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

AValiação da Qualidade de Comprimidos de Enrofloxacino Comercializados na Cidade de Uruguaiana - RS

¹ Aluno de graduação. josistrasburg@gmail.com. Autor principal

² Aluno de graduação. tassinaridessa@gmail.com. Co-autor

³ Aluno de graduação. gabrielarossibrabo@gmail.com. Co-autor

⁴ Aluno de graduação. lyanaf.berro@gmail.com. Co-autor

⁵ Docente. fabianasilva@unipampa.edu.br. Orientador



AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE COMPRIMIDOS DE ENROFLOXACINO COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE URUGUAIANA - RS

1. INTRODUÇÃO

Medicamentos de uso veterinário devem cumprir com as mesmas exigências de qualidade solicitada para os medicamentos de uso humano. Entretanto, poucos relatos na literatura avaliam a qualidade de formas sólidas orais destinadas a uso veterinário, incluindo testes básicos relacionados às características físicas de comprimidos ou aqueles relacionados à determinação do teor e perfil de dissolução (Fahmy et al, 2002; Arias et al, 2008; Cozar-Bernal, 2010; Chakravarthy et al, 2015). Para fármacos antimicrobianos, estes parâmetros de qualidade tornam-se cruciais já que desvios podem acarretar subdoses e ineficácia do tratamento, com possibilidade de geração de bactérias resistentes.

A indústria farmacêutica de produtos veterinários no Brasil possui normativa sobre as Boas Práticas de Fabricação (BPF) estabelecidas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Mundialmente, um dos setores que regulamenta e orienta a produção e controle de qualidade de medicamentos de uso veterinário é o VICH (International Cooperation on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medicinal Products) (VICH, 2006). Entretanto, a descrição das monografias dos insumos farmacêuticos e produtos acabados em farmacopéias, como as existentes para medicamentos de uso humano, ainda são indisponíveis no Brasil. Por este motivo, estudos envolvendo o controle de qualidade deste tipo de medicamento podem contribuir para a implantação de guias, normatizando as metodologias a serem empregadas para tal.

O enrofloxacin (ENRO) (1-ciclopropil-7-[4-etil-1-piperazinil]-6-fluoro-1,4-diidro-4-oxo-3-quinolino-ácido carboxílico) é um antimicrobiano de uso exclusivo veterinário pertencente à classe das fluorquinolona de 2ª geração e comercializado nas formas farmacêuticas de uso oral (comprimido e solução) e uso parenteral (injetável). Esta fluorquinolona vem sendo utilizado na prática veterinária com sucesso no tratamento de doenças respiratórias e infecções em cães e gatos. Entretanto são encontrados poucos relatos na literatura sobre a qualidade de comprimidos contendo enrofloxacin. A avaliação da qualidade desta forma farmacêutica é particularmente importante, já que desvios podem acarretar problemas de absorção e perfil de distribuição do fármaco, principalmente para aqueles que têm baixa solubilidade em meio aquoso, como o ENRO.

Desta forma, este estudo tem por objetivo avaliar a qualidade de comprimidos de ENRO de cinco diferentes laboratórios e comercializados na cidade Uruguiana (RS) nos seguintes testes: aspecto visual, peso médio, dureza, friabilidade, desintegração e teor.

2. METODOLOGIA

As amostras de comprimidos de ENRO 50 mg utilizadas nesta pesquisa foram adquiridas no comércio local (Agroveterinárias e *Petshops*) e provenientes de cinco diferentes laboratórios. Os critérios de escolha dos laboratórios foram: (a) inclusão do laboratório que produz o medicamento inovador/referência; (b) inclusão de formulações contendo ou não excipientes palatilizantes; (c) inclusão de laboratórios com a maior variação de preço praticado ao consumidor. Os comprimidos foram avaliados nos seguintes itens: aspecto visual, determinação do peso médio, determinação da dureza, avaliação da friabilidade, teste de desintegração e determinação do teor. Os testes seguiram as

recomendações gerais da Farmacopéia Brasileira 5ª ed. (2010) com exceção do teor, o qual foi determinado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de acordo com FORESTI (2015). Os estudos foram conduzidos com aproximadamente 100 comprimidos (de um único lote) de cada laboratório.

Compreendeu-se por aspecto visual parâmetros quanto à uniformidade da coloração dos comprimidos, avaliação visual e olfativa da presença de agente palatilizante, integridade dos comprimidos na embalagem primária (blister) como presença de pó, unidades quebradas ou trincadas e demais alterações relacionadas ao processo de compressão como lascas ou laminação.

O teste de peso médio foi realizado a partir da pesagem individual de 20 unidades de cada fabricante/laboratório em balança analítica Shimadzu® modelo AY220. Segundo a Farmacopeia Brasileira 5ª ed (2010), é aceitável até duas unidades fora do limite especificado ($\pm 7,5\%$) em relação ao peso médio, mas nenhum poderá estar acima ou abaixo do dobro das porcentagens.

Em relação à resistência mecânica foram realizados os testes de dureza e friabilidade. Na determinação da dureza, 10 comprimidos foram submetidos individualmente a aparelho que mede a força necessária para esmagá-los (Medidor de dureza Nova Ética®). Neste teste, nenhum comprimido deve apresentar dureza inferior a 30 N. Na determinação da friabilidade, 20 comprimidos foram previamente pesados e submetidos ao equipamento friabilômetro marca Nova Ética®, por 100 rotações (4 min/25 RPM). Com auxílio de pincel, foram eliminados quaisquer resquícios de poeira resultante deste processo e em seguida os comprimidos foram pesados novamente. Segundo a Farmacopéia Brasileira 5ª ed (2010), a diferença apresentada das pesagens do produto inicial e após o teste representa a friabilidade, e a perda de massa não deve ser superior a 1,5% do peso inicial.

O tempo de desintegração foi determinado a partir do desintegrador Nova Ética®, contendo água aquecida a 37°C. Seis comprimidos foram distribuídos de forma individual nos tubos e submetidos à ação do equipamento. O tempo de desintegração é definido como o período em que não é possível visualizar nenhum resíduo das unidades testadas na tela metálica do equipamento. Segundo a Farmacopéia Brasileira 5ª edição (2010), nenhum comprimido deve ter tempo de desintegração superior a 30 minutos.

O ENRO não possui monografia em códigos oficiais brasileiros, visto que o Brasil não disponibiliza um código exclusivo aos medicamentos veterinários como nos Estados Unidos e Europa. Entretanto, mesmo nos países onde os medicamentos veterinários fazem parte dos códigos oficiais é ofertada somente a monografia do ENRO coo insumo farmacêutico. Desta forma, devido à inexistência de monografia na forma farmacêutica comprimidos, foi utilizada para determinação do teor a metodologia por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) desenvolvida e validada em nosso grupo de pesquisa (FORESTI, 2015). Como substância química de referência (SQR) foi utilizada ENRO matéria-prima adquirida no Laboratório Pharmavet®, Uruguaiana (RS) e analisada de acordo com a monografia disponibilizada pela Farmacopéia Norte Americana (USP 32). Além disso, esta matéria-prima foi submetida a testes de identificação como: espectroscopia no ultravioleta, espectroscopia no infravermelho médio, espectroscopia de massa, testes relacionados à solubilidade e determinação do ponto de fusão. A determinação do teor foi realizada por CLAE com detector por arranjo de diodos, conforme parâmetros descritos na Tabela 1:

Tabela 1: Condições utilizadas na determinação do teor de comprimidos de ENRO por CLAE

Parâmetro	Condição
Fase móvel	Acetonitrila:tampão fosfato pH 3,0 40:60 (v/v)
Tipo de eluição	Isocrática
Vazão	1 mL/min
Volume de injeção	20 µL
Comprimento de onda	278 nm

Para as análises cromatográficas foi utilizado cromatógrafo líquido Prominence Shimadzu®, equipado com bomba LC-20AT, auto-injetor SIL-20A, detector PDA SPD-20AT, coluna Nucleodur® (C18 5 µm 4,0 x 150 mm), forno de coluna CTO-20A e *software* LC Solution V. 1.24 SP1. As fases móveis foram filtradas a vácuo, em membrana de *nylon* de diâmetro do poro de 0,45 µm e desgaseificadas em banho de ultrassom por 30 minutos. As análises foram realizadas em temperatura ambiente. Em toda a análise cromatográfica foi utilizada água purificada em sistema de purificação Milli-Q Millipore® e solventes grau HPLC.

O preparo da amostra consistiu na determinação do peso médio dos comprimidos, pulverização de 20 unidades do lote e pesagem equivalente a 25 mg da substância ativa em relação ao peso médio. O material foi transferido para balão volumétrico de 25 mL, o volume foi completado com etanol p.a e submetido a banho ultrassônico por 15 min. Após, a solução foi centrifugada por 5 minutos a 3000 RPM. Foram pipetados 400 µL e transferidos para balão volumétrico de 10 mL. Completou-se o volume com tampão fosfato pH 3.0 obtendo-se uma solução de 40 µg mL⁻¹ de ENRO, sendo que a mesma foi filtrada antes das injeções.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 estão descritos os resultados obtidos na avaliação da qualidade dos comprimidos de ENRO utilizados neste estudo.

Tabela 2: Resultados obtidos na avaliação de comprimidos de ENRO

Amostra	Aspecto visual	Peso médio (mg)	Dureza (N)	Friabilidade (%)	Desintegração (min)	Teor (%)
A	Conforme	121,68± 0,0032	68,64	0,26	16	95,29±0,02
B	Conforme	122,74± 0,0015	49,03	1,02	6	93,89±0,08
C	Conforme	121,77± 0,0020	49,03	0,28	9	99,03±0,13
D	Conforme	101,55± 0,0040	58,83	9,79	18	91,37±0,09
E	Conforme	115,56± 0,0027	58,83	2,16	13	94,37±0,07

Em relação ao aspecto visual, não foram observadas alterações como ranhuras, pó, fragmentos ou laminação nos comprimidos analisados. As amostras A e B possuíam aspecto visual e olfativo característico da presença de excipiente palatilizante. Para os comprimidos da amostra D foi observado um aspecto brilhoso e uniforme na superfície, sem a presença de excipiente palatilizante.

Todas as amostras apresentaram o peso médio de acordo com o recomendado pela Farmacopéia Brasileira 5ª edição (2010), o qual prevê, para comprimidos com peso médio entre 80 mg e 250 mg, um limite de variação de ±7,5%. Para os testes de resistência mecânica (dureza e friabilidade) foram observadas alterações na friabilidade para as amostras D e E. Como este tipo de forma farmacêutica está exposta a fatores externos que

podem influenciar na qualidade e integridade da amostra (como choques mecânicos decorrentes da produção, embalagem, armazenamento, transporte, distribuição e manuseio) é indispensável apresentar certa resistência quando submetidos ao esmagamento, possuindo uma friabilidade reduzida e uma dureza adequada. Desta forma, mesmo que testes de resistência mecânica sejam de caráter informativo nos códigos oficiais é necessário uma avaliação criteriosa da influência deles na qualidade final do produto. Em relação à dureza, todas as amostras se encontraram dentro dos limites preconizados pela Farmacopéia Brasileira 5ª edição (2010). Um tempo máximo de desintegração de 18 min foi observado para a amostra D, sendo que todas as amostras não apresentaram valores superiores ao recomendado pela Farmacopéia Brasileira 5ª edição (2010).

Na determinação do teor foi considerada a faixa de 90-110% como aceitável. Esta faixa contempla a maioria das especificações para formas farmacêuticas sólidas de uso oral e liberação imediata, incluindo as demais fluorquinolonas com monografias disponíveis nos códigos oficiais (como, por ex., o norfloxacin e o ciprofloxacino). De acordo com esta faixa de aceitação, as amostras encontram-se dentro dos limites preconizados.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo permitiu avaliação preliminar da qualidade de comprimidos de ENRO comercializados na cidade de Uruguaiana (RS), sendo que foram encontrados desvios para o teste de friabilidade nas amostras D e E. Estudos posteriores devem ser conduzidos no sentido de avaliar o perfil de dissolução das formulações disponíveis, com o objetivo de determinar a equivalência farmacêutica em comparação com o medicamento inovador/referência (Baytril®, Bayer). De maneira geral, a avaliação de antimicrobianos de uso veterinário contribui na determinação da eficácia terapêutica e segurança destes produtos, evitando sobredoses e diminuindo a possibilidade de resistência bacteriana tanto em animais quanto nos seres humanos.

5. REFERÊNCIAS

- ARIAS, J.L.; LÓPEZ-VIOTA, M.; CLARES, B.; RUIZ, M.A.; Stability of fenbendazole suspensions for veterinary use: Correlation between zeta potential and sedimentation. *Eur. J. Pharm. Sci*, v. 34, p. 257-262, 2008.
- CHAKRAVARTHY, V. A.; SAILAJA, B. B. V.; KUMAR, A. P. Stability-Indicating RP-HPLC Method for Simultaneous Estimation of Enrofloxacin and its Degradation Products in the Table Dosage Forms. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, v. 15, p. 1-11, 2015.
- CÓZAR-BERNAL, M. J.; GALLARDO, V.; SÁEZ-FERNANDEZ, E.; HOLGADO, M. A.; ÁLVAREZ-FUENTES, J.; FERNÁNDEZ-ARÉVALO, M.; ARIAS, J. L.; Role of the electrokinetic properties on the stability of mebendazole suspensions for veterinary applications. *Int. J. Pharm*, v. 393, p. 161-166, 2010.
- FAHMY, R.; MARNANE, B.; BENSLEY, D.; HOLLENBECK, R. G.; Dissolution test development for complex veterinary dosage forms: oral boluses. *AAPS PharmSci*, v.4, p. 137-144, 2002.
- FB. Farmacopeia brasileira. 5. ed. Brasília, Anvisa, 2010.
- FORESTI, G. ENROFLOXACINO: DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS E PERFIL DE DISSOLUÇÃO BASEADO EM DADOS IN VIVO. Dissertação de Mestrado. 2015 USP 32. The United States Pharmacopeia. 32 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2009

VICH GL1. International Cooperation on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medicinal Products. Validation of Analytical Procedures: Definition and Terminology. London, 2006. 22p.