

CONTROLE DE QUALIDADE DE MEDICAMENTOS DE USO VETERINÁRIO À BASE DE PENICILINAS ASSOCIADAS A ANESTÉSICOS E ANTIMICROBIANOS

Rafael S. Porto (IC)*, Lais S. R. Morais (PQ), Susanne Rath (PQ) Instituto de Química – Departamento de Química Analítica

UNICAMP

*rafaelsporto@gmail.com

Agência Financiadora: PIBIC/CNPq

Palavras-chave: Penicilinas – HPLC – Validação



INTRODUÇÃO

- Um medicamento deve apresentar ação farmacológica preservada e toxicidade em níveis aceitáveis. Para garantir esses objetivos ele deve possuir estabilidade física e química dentro de seu prazo de validade. Alterações nas concentrações declaradas dos princípios ativos em medicamentos veterinários podem ocasionar prejuízos para a saúde animal, a exportação de produtos de origem animal e a indústria de alimentos.
- As penicilinas constituem um grupo importante de antibióticos β -lactâmicos usados na medicina veterinária. Estes antibióticos compartilham uma estrutura e um mecanismo de ação comum – a inibição da síntese da parede celular bacteriana formada por peptidoglicanos.
- A importância do projeto reside no fato de que a penicilina está, geralmente, associada a outros fármacos de diferentes classes. Como os compostos apresentam propriedades físico-químicas muito diferentes, para cada formulação foi necessário estabelecer condições cromatográficas de separação de todos os componentes da formulação, para que então, em uma etapa subsequente, os métodos pudessem ser validados.

OBJETIVOS

O projeto teve como objetivo o desenvolvimento de métodos para análise de medicamentos veterinários a base de penicilina G potássica (PGPOT) e penicilina G procaína (PGPRO) em associação com outros fármacos, entre esses a diidroestreptomicina (DHS), a estreptomicina (EST), o piroxicam (PIR), a isoniazida (ISO) e a prednisolona (PRED).

Os objetivos específicos compreendem:

- Realizar os ensaios de identificação por cromatografia de camada delgada (TLC).
- Desenvolvimento e validação de métodos para análise quantitativa dos princípios ativos nas diferentes formulações utilizando HPLC-DAD.
- Análise de amostras de medicamentos veterinários.
- Avaliação da possível presença de contaminantes (arsênio, chumbo e cádmio) por ICP-OES.

EXPERIMENTAL

Ensaios de Identificação

- Cromatografia em camada delgada (TLC)

Análise de contaminantes

- ICP-OES

Condições cromatográficas

Cromatógrafo líquido de alta eficiência modelo 1525 Waters

Fase Estacionária: ACE C18 (250 x 4,6 mm, 5 μ m)

Fase Móvel: MeOH/tampão fosfato (0,05 mol L⁻¹, pH 3,5)

Modo de Eluição: gradiente

Detector: DAD (λ = 220 nm)

Vazão: 1,0 mL min⁻¹

Volume de injeção: 50 μ L

Ensaios de Quantificação

- Seletividade
- Curvas analíticas
- Precisão
- Exatidão (recuperação e adição de padrão)
- Robustez
- Análise de amostras

Ensaios de Quantificação

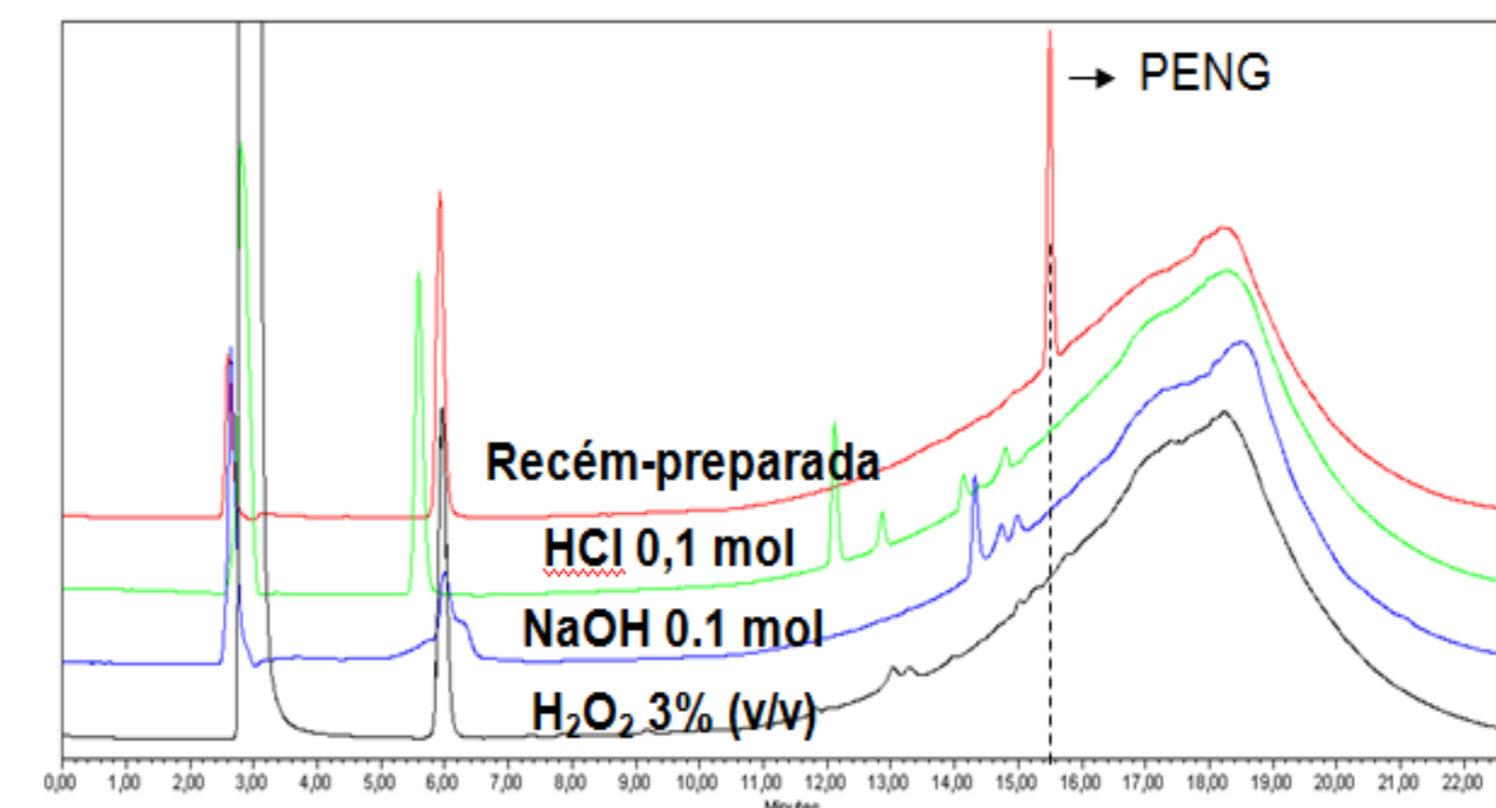


Figura 1 – Cromatogramas da solução recém-preparada e das soluções submetidas às condições de estresse descritas na figura para análise da seletividade do método.

Tabela 1 – Parâmetros de conformidade obtidos para os picos do padrões de PGSOD e de ácido fenilacético no cromatograma da Figura 1.

| Composto | t _R (min) | k | Resolução | Fator de Assimetria | Nº de pratos (USP) |
|----------|----------------------|-----|-----------|---------------------|----------------------|
| ISO | 3,7 | 0,3 | - | 1,21 | 1,05 10 ⁴ |
| PRO | 5,7 | 1,0 | - | 1,15 | 1,10 10 ⁴ |
| PENG | 15,5 | 4,5 | 52,4 | 1,12 | 1,79 10 ⁵ |
| PIR | 16,6 | 4,9 | - | - | - |
| PRED | 17,1 | 5,1 | - | 1,11 | 1,88 10 ⁵ |

Tabela 2 - Parâmetros de regressão linear, coeficientes de correlação (r) e intervalos de linearidade das curvas analíticas de trabalho obtidas para a PGPRO.

| Curva | a (intercepto) | b (inclinação) | r | Intervalo de Linearidade (μ g mL ⁻¹) |
|----------|----------------|----------------|--------|---|
| Dinâmica | 2896 | 32272 | 0,9999 | 5 - 50 |
| Trabalho | -23433 | 31290 | 0,9997 | 20 – 30 |

Tabela 3 – Valores de recuperação para as soluções das amostras dos medicamento 1, 2 e 10 nos dois níveis de fortificação adotados.

| Medicamento | Recuperação (%) | |
|-------------|-----------------------------------|------------|
| | Nível de fortificação Baixo (33%) | Alto (67%) |
| 1 | 99 | 103 |
| 2 | 103 | 102 |
| 10 | 99 | 100 |

Tabela 4 – Repetitividade e precisão intermediária para as amostras dos medicamentos 1, 2 e 10.

| Medicamento | Repetitividade CV (%) | Precisão Intermediária CV (%) |
|-------------|-----------------------|-------------------------------|
| 1 | 1,3 | - |
| 2 | 0,8 | 0,8 |
| 10 | 0,4 | - |

Tabela 5 – Valores dos efeitos calculados para cada um dos parâmetros avaliados no teste de Youden.

| Parâmetro | Efeito (%) |
|--------------------------|------------|
| Proporção da FM | 3,48 |
| pH da FM aquosa | 3,32 |
| Vazão da FM | 5,25 |
| Uso de ultra-som | -1,20 |
| Solubilização da amostra | 16,27 |
| Temperatura da coluna | 2,06 |
| Comprimento de Onda | 5,67 |

Tabela 6 – Quantidade de PGPRO (em UI) por frasco dos medicamentos 1, 2 e 10 a partir de uma análise por adição de padrão.

| Amostra | Teor experimental (UI) | Teor nominal (UI) | Desvio do valor declarado (%) |
|---------|------------------------|-------------------|-------------------------------|
| 1 | 4.729.184 | 5.000.000 | -5,4 |
| 2 | 5.565.566 | 5.000.000 | +11,3 |
| 10 | 1.958.367 | 1.500.000 | +30,6 |

*1 mg de PGPRO \approx 975 UI (Unidades Internacionais)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Otimização das condições cromatográficas

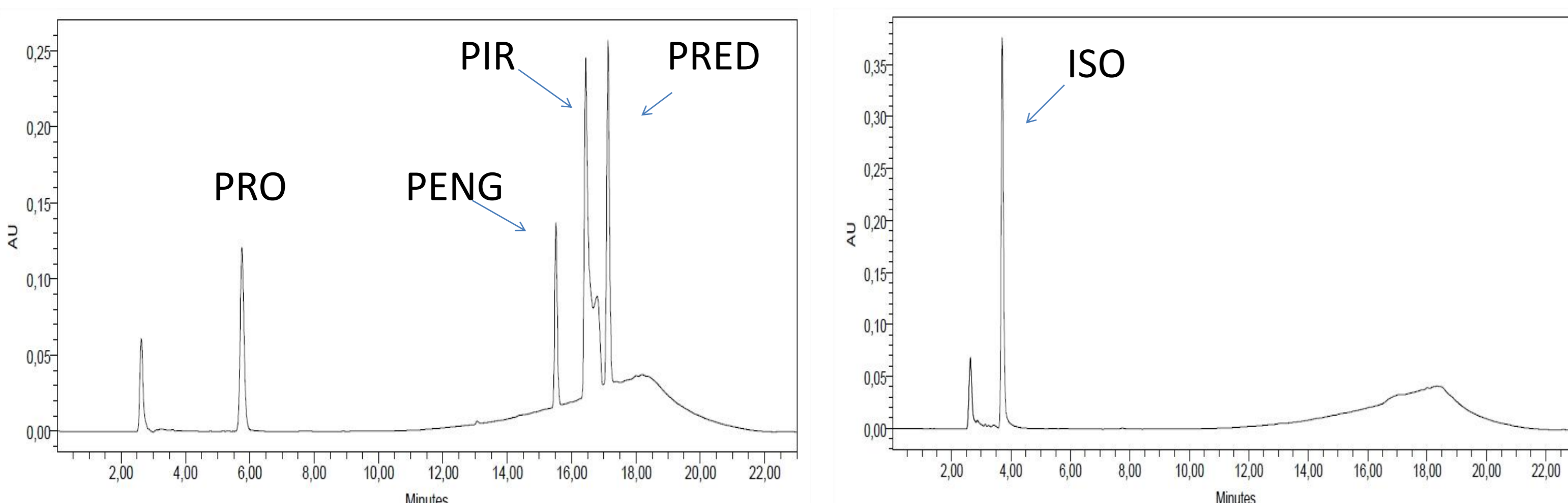


Figura 2 - Cromatogramas obtidos para uma solução de (A) PGPRO, PIR e PRED e (B) ISO empregando HPLC-DAD.

Análise de contaminantes

A análise das dez amostras apontou uma possível presença significativa de arsênio nas amostras 6 e 7. No entanto, a análise desenvolvida teve um caráter exploratório, uma vez que inicialmente não havia uma estimativa da quantidade de contaminantes presentes nas amostras. Estudos adicionais são necessários.

CONCLUSÃO

- O método para a determinação de PGPRO em formulações de pó para solução injetável foi estabelecido e validado. Os parâmetros de validação foram estabelecidos conforme as determinações da ANVISA.
- Dois dos três medicamentos analisados apresentaram um teor de penicilina dentro da faixa aceitável de 90 a 115% estabelecida pela farmacopéia americana para formulações de pó para solução injetável. Já o medicamento 10 apresentou um teor 30% maior do que o declarado.

AGRADECIMENTOS

