

UTILIZAÇÃO DE CINCO DIFERENTES MÉTODOS DE DOSEAMENTO DO NORFLOXACINO NO ESTUDO DA SUA ESTABILIDADE TÉRMICA.

FROEHLICH, P.E., SCHAPOVAL, E.E.S.

FACULDADE DE FARMACIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL, PORTO ALEGRE, RS, BRASIL.

INTRODUÇÃO: Muitos dos novos agentes antimicrobianos que estão sendo ou serão introduzidos brevemente no mercado pertencem à classe das quinolonas antibacterianas, isto é, das 4-quinolonas e, em particular, dos 6-fluór-7-piperazinil derivados desta classe de compostos. O norfloxacinó foi o primeiro destes novos compostos, denominados fluoroquinolonas, desenvolvido para o uso clínico(01). Neste trabalho, comparou-se os resultados de cinco diferentes métodos de doseamento do norfloxacinó no estudo de sua estabilidade térmica: o método microbiológico de difusão em ágar(cilindros em placas)(05); a cromatografia líquida de alta eficiência(07); a espectrofotometria no ultravioleta(02) e a espectrofotometria no visível, utilizando o cloreto de ferro III(03) e o reagente de Marquis(04). Este trabalho teve um duplo objetivo; o de verificar a estabilidade térmica de comprimidos de norfloxacinó e o de acompanhar o desempenho dos métodos utilizados, uma vez que os métodos físico-químicos nem sempre são sensíveis na análise dos produtos de degradação.

MATERIAL E MÉTODOS:

1) Método microbiológico de difusão em ágar(cilindros em placas): utilizou-se como microorganismo o *Bacillus subtilis* ATCC 6633; meio de cultura número 11 de Grove-Randall para as camadas de base e de inóculo; tampão fosfato pH 8,0 para as diluições do padrão e da amostra; para a curva padrão utilizaram-se concentrações de 10, 20 e 40 ug/ml e 20 ug/ml para a amostra, sendo aplicados 200 ul em cada cilindro(05).

2) Comatografia líquida de alta eficiência: utilizou-se um sistema da Waters; módulo de compressão radial mod. RCM 8x10 e cartucho Radial Pak C18(8x10) de fase reversa; as concentrações das soluções utilizadas para a curva padrão e amostra foram de 5, 10 e 20 ug/ml e o volume injetado foi de 20 ul; como fase móvel utilizou-se uma mistura de água:metanol:ác. fosfórico(700:300:1,9) e 1,4 g de iodeto de tetrabutilamônio(07).

3) Ultravioleta: prepararam-se soluções de padrão e amostra contendo 5 ug/ml de norfloxacinó em HCl 0,1 M; mediu-se as absorvâncias a 277 nm em espectrofotômetro Varian, série 634(02).

4) Espectrofotometria no visível utilizando o cloreto de ferro III: empregaram-se concentrações de 30 a 60 ug/ml de norfloxacinó para a curva padrão e para a amostra; antes da última diluição o pH das soluções foi ajustado para $7,5 \pm 0,2$; utilizou-se como reagente uma solução contendo 250 ug/ml de cloreto de ferro III(03).

5) Espectrofotometria no visível utilizando o reagente de Marquis: a curva padrão e a amostra foram preparadas com concentrações de norfloxacinó de 200 a 300 ug/ml, usando o reagente de Marquis para o desenvolvimento da reação(04).

RESULTADOS: Os resultados relativos ao estudo da estabilidade térmica do norfloxacinó, utilizando os cinco diferentes métodos em cada tempo e em cada temperatura encontram-se representados nas tabelas 1, 2 e 3, e nas figuras 1, 2, e 3.

TABELA 1: Concentração de norfloxacino (t = 40°C).

Método	TEMPERATURA = 40°C							
	t(dias)	0	7	21	35	49	63	91
Microb.		100,00	100,22	99,51	96,83	95,56	95,27	94,57
C.L.A.E.		100,36	100,79	100,14	99,96	99,26	99,51	99,41
U.V.		99,46	99,73	97,89	97,03	96,79	96,39	95,94
FeCl ₃		100,22	99,59	99,09	98,32	97,93	96,42	95,52
R. Marquis		100,53	99,80	97,92	96,97	98,27	93,82	94,16

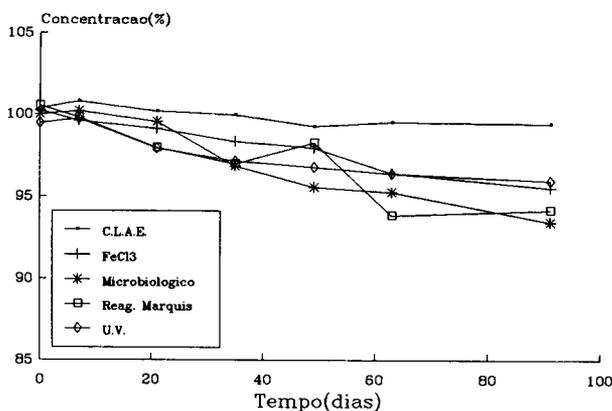


FIGURA 1: Concentração de norfloxacino (t = 40°C).

TABELA 2: Concentração de norfloxacino (t = 50°C).

Método	TEMPERATURA = 50°C							
	t(dias)	0	7	21	35	49	63	91
Microb.		100,00	99,08	98,80	96,18	95,13	94,01	92,74
C.L.A.E.		100,36	99,15	99,93	100,87	99,68	99,71	100,20
U.V.		99,46	99,91	97,70	96,84	96,01	95,70	94,28
FeCl ₃		100,22	99,50	98,41	97,63	96,99	95,88	95,54
R. Marquis		100,53	99,79	99,43	97,70	95,17	95,18	93,62

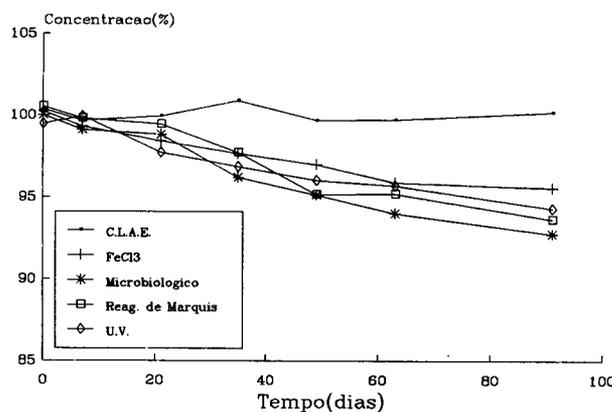


FIGURA 2: Concentração de norfloxacino (t = 50°C).

TABELA 3: Concentração de norfloxacino (t = 60°C).

Método	TEMPERATURA = 60°C							
	t(dias)	0	7	21	35	45	63	91
Microb.		100,00	99,22	98,37	95,36	94,43	93,44	91,89
C.L.A.E.		100,36	100,92	100,41	100,14	99,63	99,89	99,66
U.V.		99,46	99,22	98,37	95,36	94,43	93,44	91,89
FeCl ₃		100,22	99,39	98,14	97,54	96,52	95,05	94,56
R. Marquis		100,53	97,91	97,77	95,74	95,09	94,65	91,32

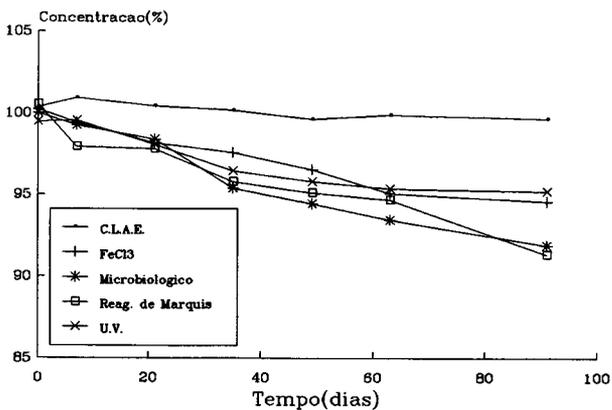


FIGURA 3: Concentração de norfloxacino (t = 60°C).

DISCUSSAO/CONCLUSOES: Como pôde ser observado nas figuras 1, 2 e 3, o método microbiológico, utilizado como referência, detectou uma variação de concentração relativamente pequena, em relação ao tempo e temperaturas empregadas. Estes resultados demonstram a elevada estabilidade térmica do norfloxacin, já indicada em trabalhos anteriores(07). De acordo com os resultados obtidos, somente o método cromatográfico(C.L.A.E.), nas condições de ensaio utilizadas, não foi sensível aos produtos de degradação. Segundo ROTAR e LAMPIC(07), o emprego de colunas de sílica impede a detecção de picos secundários de menor intensidade, devido à interação do norfloxacin com grupos silanos livres da coluna. Os métodos espectrofotométricos utilizados apresentaram um comportamento semelhante ao método microbiológico, sendo que não houve diferença significativa entre os resultados, segundo o teste "t" de Student, ($p < 0,05$). Assim sendo, os métodos espectrofotométricos estudados mostraram-se sensíveis e reprodutíveis no doseamento do norfloxacin, mesmo em presença de produtos de degradação.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

01. ANDRIOLI, V.T. (Ed). **The Quinolones**. London: Academic Press, 1982. 262p.
02. FROEHLICH, P.E., SCHAPOVAL, E.E.S. Doseamento físico-químico do norfloxacin. Espectrofotometria no ultravioleta. **Rev.Ciênc.farm.**, São Paulo, 12: 167-70, 1990.
03. FROEHLICH, P.E., SCHAPOVAL, E.E.S., BORTOLAN, S. Doseamento físico-químico do norfloxacin. Método espectrofotométrico do cloreto de ferro III. **Rev.Ciênc.farm.**, São Paulo, 12:171-6, 1990.
04. FROEHLICH, P.E., SCHAPOVAL, E.E.S. Doseamento físico-químico do norfloxacin. Método espectrofotométrico do reativo de Marquis. **Rev.Ciênc.farm.**, São Paulo, 12: 177-82, 1990.
05. FROEHLICH, P.E., SCHAPOVAL, E.E.S. Doseamento microbiológico do norfloxacin Método da difusão em ágar(cilindros em placas). **Rev.Ciênc.farm.**, São Paulo, 12: 161-5, 1990.
06. GROENEVELD, A.J.N., BROWERS, J.R.B.J. Quantitative Determination of Ofloxacin, Ciprofloxacin, Norfloxacin and Pefloxacin in Serum by High Pressure Liquid Chromatography. **Pharm.Weekbl. [Sci]**, 8: 79-84, 1986.
07. ROTAR, A., LAMPIC, P.S. Stability Indicating HPLC Method for Norfloxacin Using PSDBV Based Stationary Phase. **Acta Pharm. Jugosl.**, 39: 123-8, 1989.