

*Artigo original*

## **Verificação da estabilidade e do desempenho *in vitro* de suspensões extemporâneas de amoxicilina de medicamentos genéricos, similares e referência** ***Stability and performance verification in vitro of extemporaneous suspensions of amoxicillin generic, similar and reference medicines***

**Blanca Elena Ortega Markman<sup>1</sup>; Fernanda Martini Graco<sup>1</sup>; Elizabeth Wu Meihuey<sup>1</sup>; Valeria Adriana Pereira Martins<sup>1</sup>; Paulo César Pires Rosa<sup>II</sup>**

<sup>I</sup>Instituto Adolfo Lutz. Centro de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes. Núcleo de Ensaios Físico-Químicos em Medicamentos. <sup>II</sup>Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp. Departamento de Farmacologia da FCM/Unicamp. São Paulo, Brasil

### **RESUMO**

A amoxicilina é medicamento de primeira escolha para infecções das vias aéreas superiores, por ser mais bem absorvida do que outros antibióticos beta-lactâmicos quando ingerida por via oral. Foi objetivo deste estudo avaliar a estabilidade de suspensões extemporâneas de amoxicilina de uso oral, de acordo com RE n.1 – Anvisa de 29/07/05<sup>5</sup> e USP 35 ed.,<sup>6</sup> bem como o desempenho *in vitro* por meio das propriedades de dissolução, no período indicado para o uso após a reconstituição. Seis amostras foram obtidas no mercado farmacêutico, de forma aleatória, e uma da distribuição do SUS. Três eram medicamentos genéricos, de diferentes fabricantes, denominados G1, G2 e G3; três similares de diferentes fabricantes S1, S2 e S3 e 01 referência R. Os estudos abrangeram a identificação e teor de amoxicilina, pH, teor de água e as propriedades de dissolução para prever o desempenho do fármaco, complementando estudos anteriores. O aspecto do pó e das suspensões, pH, teor de água e do ativo atenderam à especificação da farmacopeia americana – USP 35 ed., para o primeiro e sétimo dia após a reconstituição. Embora o teor de amoxicilina atendesse à especificação no sétimo dia, houve degradação da amoxicilina nas suspensões em até 15%, superando os limites de aceitação de até 0,1%, para dose máxima diária de  $\leq 1g$ , em desacordo com a RDC n. 53 de 2015. Este estudo verificou possíveis falhas na performance da formulação da suspensão de um dos sete medicamentos testados (genérico G3 com liberação de 50% de amoxicilina no sétimo dia após a reconstituição, no teste de dissolução), podendo inferir problemas farmacotécnicos da formulação. Destaca-se a importância da realização do estudo de estabilidade das suspensões extemporâneas no período indicado para o uso, para garantir a eficácia do tratamento antimicrobiano e prevenindo o desenvolvimento de resistência bacteriana pela redução da dose a níveis subterapêuticos devido a problemas na formulação, assim como a segurança de uso em relação aos produtos de degradação.

**PALAVRAS-CHAVE:** Amoxicilina. Suspensão. Dissolução. Estabilidade.

## ABSTRACT

Amoxicillin is the drug of first choice for upper respiratory tract infections because it is better absorbed orally compared to other beta-lactams antibiotics. The aim of this study was to conduct stability studies of oral use extemporaneous suspensions amoxicillin according to RE 1<sup>5</sup> – ANVISA from 29/07/05 and USP-35,<sup>6</sup> as well as the performance *in vitro* through of the dissolution properties, in the period indicated for use after reconstitution. Six samples have been obtained randomly at Brazilian pharmaceutical market and another one at SUS distribution: being three generic medicines of different manufacturers named G1, G2 and G3; three similar from different manufacturers S1, S2 and S3 and 01 reference. The project included identification and amoxicillin assay, pH, water content, and properties of dissolution to predict drug performance, in order to complement previous studies. The results of the aspect of the powder and the suspensions, about aspect, pH, water and assay were in compliance with USP specification 35 for the first and seventh day after reconstitution. Although the amoxicillin assay has followed the specification on the seventh day, it showed values up to 15% for degradation, that exceed the acceptance limits that is 0.1%, for maximum daily dose of  $\leq 1$  g, in disagreement to resolution RDC 53 of 2015. This study verified possible failures in the performance of the suspension formulation of one of the seven drugs tested (generic G3 with release of 50% amoxicillin on the seventh day after reconstitution in the dissolution test), and may infer pharmacological problems of the formulation. The importance of carrying out the stability study of the extemporaneous suspensions in the period indicated for the use, to guarantee the effectiveness of the antimicrobial treatment and preventing the development of bacterial resistance by the reduction of the dose to subtherapeutic levels due to problems in the formulation, as well as the safety of use in relation to degradation products.

**KEYWORDS:** Amoxicillin. Suspensions. Dissolution. Stability.

## 1 INTRODUÇÃO

A amoxicilina é um antibiótico beta-lactâmico semi-sintético, apresenta atividade bacteriostática e bactericida, inicialmente chamado de p-hidroxi-ampicilina. Apresenta-se na forma de sais como cloridrato, sulfato de sódio, potássio, e a forma tri-hidratada, que é a mais utilizada em formulações farmacêuticas.<sup>1</sup> A amoxicilina possui características ácido-resistentes, é de primeira escolha para infecções das vias aéreas superiores, por ser mais bem absorvida do que os outros beta-lactâmicos quando ingerida por via oral. A presença de alimentos no estômago parece

não diminuir a absorção total da dose administrada.<sup>2</sup>

A degradação química de fármacos pode ocorrer por meio de diversas reações químicas, sendo as mais comuns a oxidação, a hidrólise e a racemização. A amoxicilina apresenta degradação típica das penicilinas, em meio alcalino abre o anel lactâmico resultando no ácido peniciloico, e em meio ácido a hidrólise forma o ácido penicilênico.<sup>1</sup> As formas farmacêuticas sólidas que contêm amoxicilina apresentam maior estabilidade do que as formulações líquidas.<sup>1</sup>

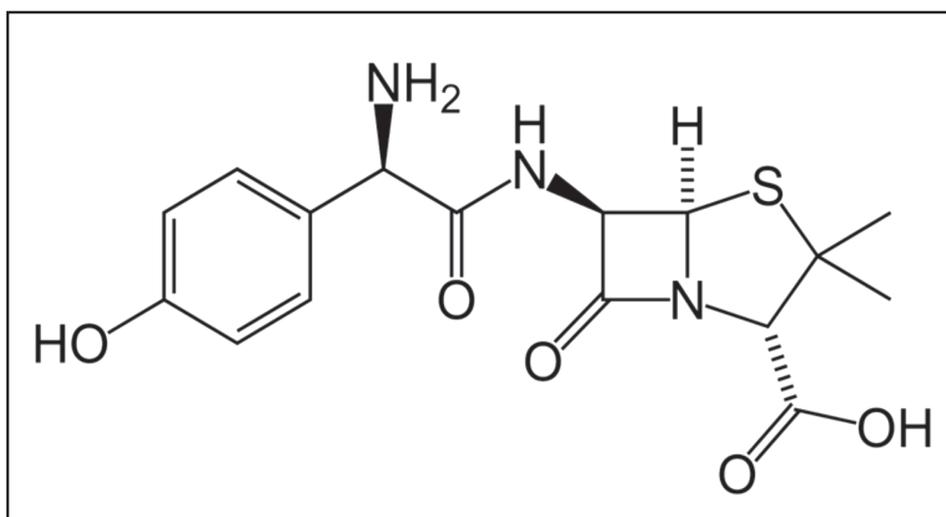


Figura 1. Estrutura química da amoxicilina

A Organização Mundial de Saúde (OMS)<sup>3</sup> define estabilidade farmacêutica como a capacidade do produto farmacêutico de manter suas propriedades químicas, físicas, microbiológicas e biofarmacêuticas dentro dos limites especificados, durante todo o seu prazo de validade.<sup>3</sup>

Os estudos de estabilidade são realizados principalmente no produto armazenado, com a finalidade de verificar a variação da qualidade do produto.<sup>4</sup> Segundo a Resolução – RE n. 1 de 29 de julho de 2005 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa,<sup>5</sup> a estabilidade de produtos farmacêuticos depende de fatores ambientais, como luz, temperatura, umidade, dióxido de carbono, oxigênio, do pH ou de fatores relacionados às propriedades físico-químicas do fármaco, dos excipientes farmacêuticos, da forma farmacêutica, do processo de fabricação, do tipo e das propriedades do material de embalagem do produto. Testes periódicos durante o período de validade do produto podem subsidiar o estabelecimento das condições ideais de armazenamento.<sup>5</sup>

Segundo descrito na Farmacopeia Americana 35<sup>6</sup> (United States Pharmacopeial Convention – USP), suspensões farmacêuticas são preparações líquidas constituídas de partículas sólidas dispersas em uma fase líquida em que as partículas não são solúveis. A fase externa é uma fase líquida aquosa, oleosa, ou orgânica e a fase interna é insolúvel, porém é uniformemente dispersa.<sup>6</sup> Assim, as suspensões de amoxicilina de uso oral são formas farmacêuticas que apresentam liberação modificada, sendo constituídas de partículas sólidas de amoxicilina revestidas com excipientes formando microcápsulas, que permitem a liberação modificada do ativo.<sup>6</sup> Estas formulações são estáveis, aumentam o intervalo da dose, permitem o ajuste de dose em função do peso<sup>7</sup> e facilitam a administração principalmente para pacientes pediátricos.<sup>7</sup>

A estabilidade da forma farmacêutica suspensão é complexa porque o balanço entre floculação e defloculação é rapidamente alterado por pequenas mudanças do pH, em temperaturas altas ou baixas, na concentração

de eletrólitos adequada, de polímeros e de outros aditivos como flavorizantes e corantes. Fatores como viscosidade e densidade da fase dispersante e temperatura de armazenamento também podem alterar esses requisitos durante o tempo de prateleira do produto, afetando a estabilidade da suspensão.<sup>8</sup> As suspensões devem cumprir os requisitos de redispersão após agitação, tamanho constante das partículas, aparência homogênea e resistência microbiana.<sup>8</sup>

De acordo com Brown et al.<sup>9</sup> o teste de dissolução é uma importante ferramenta no desenvolvimento de novos medicamentos, na sua caracterização biofarmacêutica, para assegurar a qualidade do produto assim como a reprodutibilidade de lote a lote no controle de qualidade, na predição da performance dos fármacos no organismo,<sup>10,11</sup> e na avaliação dos estudos de estabilidade.<sup>10</sup>

A indústria farmacêutica desenvolveu o teste de dissolução inicialmente para formas farmacêuticas orais de liberação imediata, e a seguir para sólidos orais de liberação modificada. A aplicação do teste de dissolução expandiu-se para uma variedade de formas farmacêuticas especiais, que devido a sua importância e complexidade levou ao desenvolvimento de métodos de dissolução modificados, para caracterizar a liberação do ativo *in vitro* destas formas farmacêuticas.<sup>9</sup>

A avaliação da estabilidade de apresentações farmacêuticas inclui testes de identidade, potência, uniformidade de doses unitárias, pH, umidade, pureza, desintegração e o teste de desempenho de produto mediante o teste de dissolução.<sup>6</sup> As monografias descritas nos compêndios oficiais nacionais e internacionais, para a forma farmacêutica pó para

suspensão oral extemporânea de amoxicilina, não contemplam o ensaio de dissolução.

Com a finalidade de complementar os estudos anteriores de estabilidade de suspensões orais extemporâneas de amoxicilina 250 mg/5 mL de medicamentos genéricos, similares e de referência no pós comercialização,<sup>12</sup> foi objetivo deste estudo avaliar a estabilidade de suspensões extemporâneas de amoxicilina de uso oral, no período indicado para o uso após a reconstituição, de acordo com RE n.1 – Anvisa de 29/07/05<sup>5</sup> e USP 35 ed.<sup>6</sup> bem como o desempenho *in vitro* das suspensões por meio das propriedades de dissolução.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

Foram selecionadas sete (7) amostras de pó para suspensão oral de amoxicilina 250 mg/5 ml, seis (6) obtidas no mercado farmacêutico de forma aleatória e uma (01) distribuída pelo Sistema Único de Saúde, e eram constituídas de: três (3) medicamentos genéricos, de diferentes fabricantes denominados de G1, G2 e G3; três (3) medicamentos similares também de diferentes fabricantes, denominados S1, S2 e S3 e 01 medicamento referência, denominado R.

Reagentes: fosfato de potássio monobásico da VETEC lote 1008358; metanol da Lichrosolv lote I65390235; reagente Karl Fischer Sigma Aldrich lote 52bc2820v, methanol hydranal dry Sigma Aldrich lote szba3020.

Padrão secundário certificado de amoxicilina triidratada de procedência da Deretil S.A de potência 85,73%, lote: M 399300.1, filtros com membrana de fluoreto

de polivinilideno (PVDF) com poros de 0,45 $\mu$ m, marca Millex, lote B9PN74636.

Os equipamentos utilizados foram: dissolutor Erweka modelo DT12R; Cromatógrafo Líquido de Alta Performance (CLAE) Shimadzu modelo Class VP10, com detector UV/Visível SPD-10AVR, forno CTO-10AC, amostrador automático SIL-20A e sistema controlador SCL-10; balança analítica Metler Toledo modelo AL 204; ultrassom Unique modelo 2800; Karl Fisher Methrom e pHmetro Pensolab.

## 2.2 Métodos

### 2.2.1 Aspecto do pó para suspensão de amoxicilina 250 mg/5 mL

Foi observado o conteúdo do frasco a olho nu, se o pó do frasco quando agitado apresentava grumos ou não. Em seguida o frasco foi esvaziado em placa de vidro para verificar a cor e a homogeneidade. O procedimento foi realizado com um frasco de cada medicamento.

### 2.2.2 Determinação de teor (%) de água no pó para suspensão de amoxicilina

O teor de água foi determinado segundo o método de Karl Fischer descrito na USP 35 ed.<sup>6</sup> Os equipamentos e reagentes utilizados foram: Balança Analítica Metler Toledo Modelo AL 204, Karl Fisher Methrom, reagente Karl Fisher Sigma Aldrich lote 52bc2820v, metanol anidro da Sgima Aldrich lote szba3020 e navete de vidro. O princípio do método baseia-se na reação quantitativa da água com a solução anidra de dióxido de enxofre e iodo em presença de uma solução tampão que reage com íons hidrogênio. A titulação

da água foi realizada com o uso de metanol anidro, como solvente para a amoxicilina e água como referência. Foi estabelecida uma massa de aproximadamente 50 mg de pó para suspensão oral para a determinação do teor de água em todos os medicamentos analisados.

### 2.2.3 Reconstituição do pó para suspensão oral de amoxicilina 250 mg/5 ml

Foram reconstituídas diariamente duas amostras de pó para suspensão, as quais foram previamente homogeneizadas mediante agitação, logo após reconstituídas, com adição de água ultrapurificada até a marca indicada no rótulo e homogeneizadas. Em seguida foi verificado novamente o volume da suspensão, quando necessário foi completado o volume até a marca indicada. Verificou-se o aspecto e a cor da suspensão. Estas suspensões foram armazenadas em temperatura ambiente durante o período de uso (07 dias).

### 2.2.4 Determinação do pH

O pH foi determinado diretamente nas suspensões por meio de pHmetro previamente calibrado com tampões de referência 4, 7 e 10, conforme descrito na USP 35 ed.,<sup>6</sup> no primeiro e sétimo dia após a reconstituição das suspensões.

### 2.2.5 Identificação e determinação do teor do princípio ativo amoxicilina por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

#### 2.2.5.1 Preparo da solução padrão de amoxicilina

A solução padrão de amoxicilina foi preparada diariamente, pesando-se cerca de 30 mg de padrão de amoxicilina triidratada,

de potência 85,73%, dissolvidos em água ultrapurificada, em balão volumétrico de 25 ml, a solução filtrada em filtro PVDF de 0,45  $\mu$  resultando em concentração de 1 mg/mL de amoxicilina, de acordo com método desenvolvido e validado em estudos anteriores no nosso laboratório.<sup>12</sup>

### 2.2.5.2 Preparo das soluções das suspensões de amoxicilina

A diluição das suspensões foi preparada com 5 ml de suspensão previamente homogeneizada, medida em pipeta volumétrica e transferida quantitativamente para um balão volumétrico de 250 ml, foi adicionada água ultrapurificada até completar o volume, a solução foi homogeneizada e 3 ml da solução foram filtrados em cartucho de PVDF e transferidos para o frasco.

### 2.2.5.3 Análise cromatográfica

Foi empregado método indicativo de estabilidade de amoxicilina em suspensão oral, desenvolvido e validado em estudos anteriores no nosso laboratório.<sup>12</sup> O sistema cromatográfico era constituído de: coluna em fase reversa C18 Hypersil, 12,5 x 4,6 mm, com partículas de 5  $\mu$ ; Fluxo 1,5 mL por minuto; detecção no ultravioleta a 230 nm; volume de injeção 10  $\mu$ L; temperatura 25°C; a fase móvel preparada diariamente era constituída de tampão fosfato monobásico de potássio 0,05 mM (pH ajustado para 5,0  $\pm$  0,1); metanol (95:5); tempo de corrida: 8 minutos. Foram injetados 10  $\mu$ L das soluções do padrão e da suspensão, e processados no sistema cromatográfico. Todos os procedimentos descritos foram realizados no primeiro dia e repetidos no sétimo dia após a reconstituição da suspensão.

### 2.2.6 Estabilidade

A estabilidade foi avaliada por meio da comparação dos cromatogramas da determinação do teor de amoxicilina no primeiro dia e do sétimo dia após a reconstituição da suspensão. Foi processada a solução padrão de amoxicilina na concentração de 1 mg/mL, preparada no dia, nas condições cromatográficas: fase móvel, tampão fosfato monopotássico (0.05 M), e metanol (95:5); 30°C, fluxo 1.5 mLmin<sup>-1</sup>; 230 nm; coluna C-18 Hypersil, 12,5 x 4,6 mm, com partículas de 5  $\mu$ m. O procedimento para identificar os produtos de degradação nos medicamentos foi semelhante a estudo anterior e<sup>12</sup> e consistiu em:

- No cromatograma do padrão de amoxicilina preparado no dia, foram selecionados picos com tempos de retenção de áreas significativas.
- Nos cromatogramas das amostras no primeiro dia após a reconstituição, também foram selecionados os mesmos picos com os mesmos tempos de retenção.
- Foram comparados os cromatogramas das amostras no primeiro e sétimo dia após a reconstituição, verificando se houve o aumento das áreas dos picos selecionados e o aparecimento de novos picos com áreas consideradas significativas.

### 2.2.7 Teste de Dissolução

O tempo de agitação para a dispersão das suspensões foi padronizado em 01 minuto. Logo após foi realizada a tomada de ensaio de 5 mL em pipeta volumétrica. O método do ensaio de dissolução foi adequado do método

descrito na USP 35 ed.<sup>6</sup> para cápsulas de amoxicilina e, segundo descrito na Resolução RE n. 899, de 29 de maio de 2003 da Anvisa,<sup>13</sup> por ser método farmacopeico a metodologia é considerada validada.

As condições do teste foram: meio de dissolução água ultra purificada no volume 900 mL, temperatura 37°C ± 0,5, aparato 2 (pá), rotação 50 rotações por minuto, tempo de dissolução 30 minutos. Foram transferidos para cada uma das seis cubas, 5 mL da suspensão, previamente redispersa (250 mg/5 mL), após decorrido o tempo estabelecido para a dissolução, foram coletados aproximadamente 10 mL, filtrados imediatamente em cartucho de PVDF com poros de 0,45 µ, e 2 mL transferidos para o frasco. O padrão de amoxicilina foi preparado diariamente, na concentração aproximada de 0,277 mg/mL, em solução aquosa, filtrado em PVDF de 0,45 µ. Foram injetados 40 µL da solução do padrão de amoxicilina e das soluções obtidas no ensaio de dissolução, e analisados pelo emprego do método indicativo de estabilidade.<sup>12</sup> Todo o procedimento de dissolução foi realizado no primeiro e sétimo dia após a reconstituição das suspensões.

### 3 Resultados

#### 3.1 Aspecto do pó

Homogêneo e livre de grumos, de coloração branca levemente amarelada em todas as amostras.

#### 3.2 Aspecto das suspensões de amoxicilina

Homogêneas, de coloração rosa nas suspensões G1, G2, S1, S3 e R; branca nas suspensões S2 e G3.

#### 3.3 Teor de água (%)

Os resultados da determinação do teor de água (%) nas amostras de pó para suspensão oral de 250 mg/5 mL de amoxicilina, realizadas pelo método de Karl Fisher de acordo com a USP 35 ed.<sup>6</sup> foram: medicamento genérico G1 2,30%; G2 2,37%; G3 2,03%; medicamento similar S1 3,70%; S2 2,52%; S3 2,12%, e o medicamento referência R 2,16%.

#### 3.4 Valores de pH encontrados

Os resultados da determinação de pH nas suspensões orais de amoxicilina 250mg/mL no primeiro e no sétimo dia após a reconstituição atendem à especificação estabelecida na USP 35 ed.<sup>6</sup> entre 5,0 a 7,5, com exceção para o medicamento similar S1 que apresentou um valor de pH no sétimo dia abaixo da especificação (menor que 5) e estão representados na figura 2.

#### 3.5 Identificação e determinação do teor do princípio ativo amoxicilina

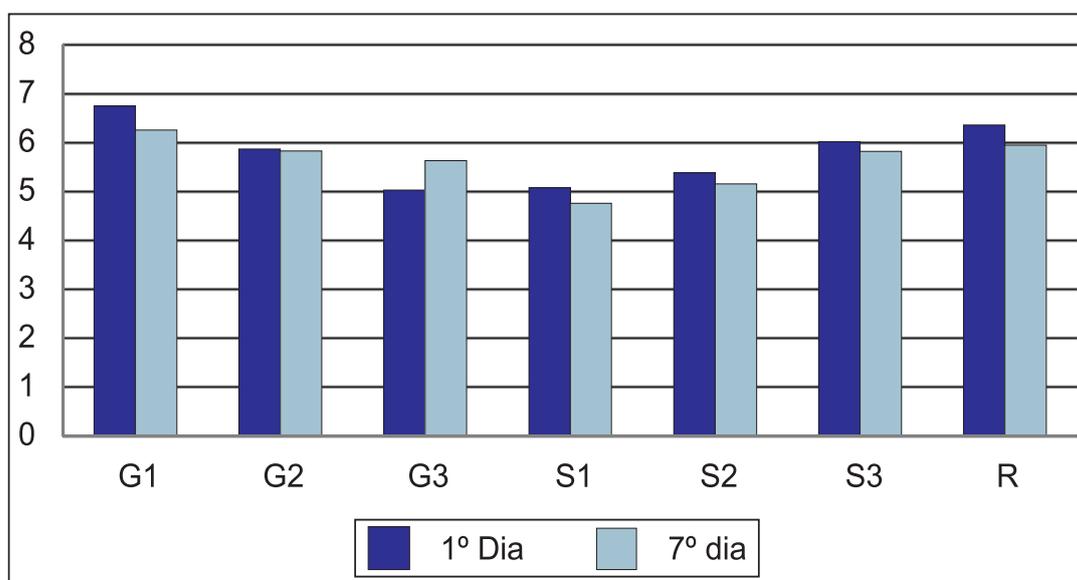
A identificação da amoxicilina foi positiva para todas as amostras, no primeiro e no sétimo dia. O teor da amoxicilina em todas as suspensões orais atendia ao valor de especificação estabelecido pela USP 35 ed.<sup>6</sup> (entre 90 a 120% do teor declarado). Os valores encontrados para amoxicilina no primeiro e sétimo dia estão representados na tabela 1.

#### 3.6 Estabilidade

A estabilidade das seis suspensões orais de amoxicilina está demonstrada por meio da diminuição das unidades de área do ativo amoxicilina e aumento das unidades de áreas dos produtos de degradação. As figuras 3A,

3B e 3C representam os cromatogramas do padrão de amoxicilina preparado no dia, da degradação da amoxicilina do medicamento

referência R e do medicamento genérico G2 após o sétimo dia da reconstituição, respectivamente.



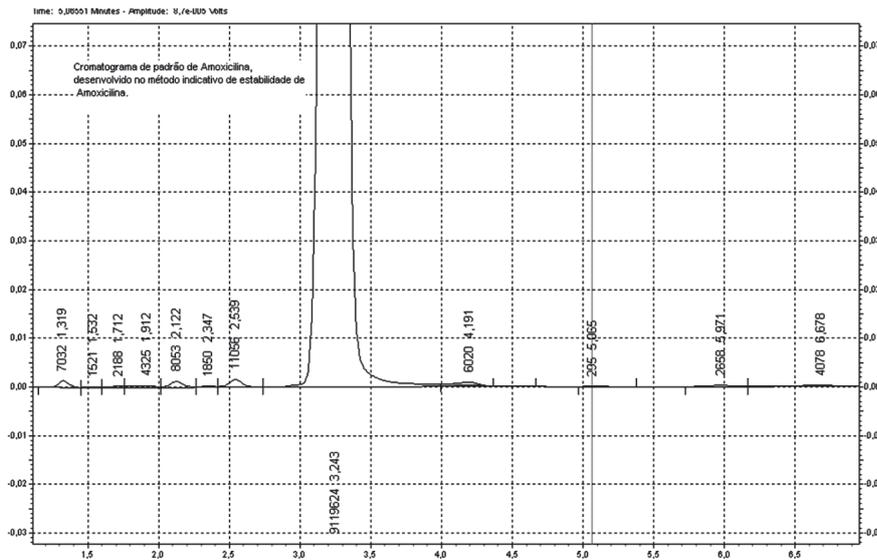
G= suspensões de medicamentos genéricos; S= suspensões de medicamentos similares; R= suspensão de medicamento referência

**Figura 2.** Determinação de pH nas suspensões de amoxicilina, no 1º e 7º dia após a reconstituição

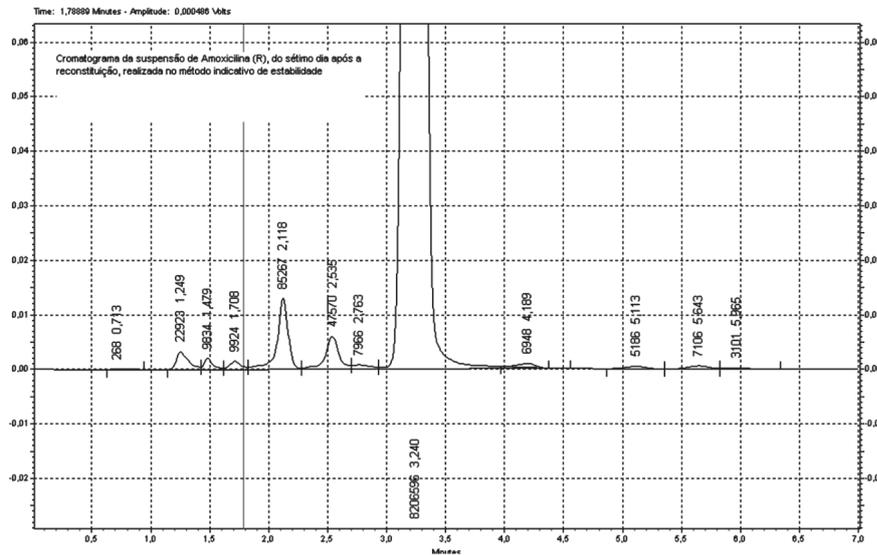
**Tabela 1.** Teor de amoxicilina encontrados nas suspensões orais de 250 mg/5 mL no 1º e no 7º dia após reconstituição da suspensão, utilizando método indicativo de estabilidade

Dias	G1	G2	G3	S1	S2	S3	R
1º	98 %	112%	113%	97%	107%	98%	92%
7º	98%	105%	98%	96%	101%	96%	92%
<b>Diferença entre o 1º e 7º dia</b>	0 %	7%	15%	1%	6%	2%	0%

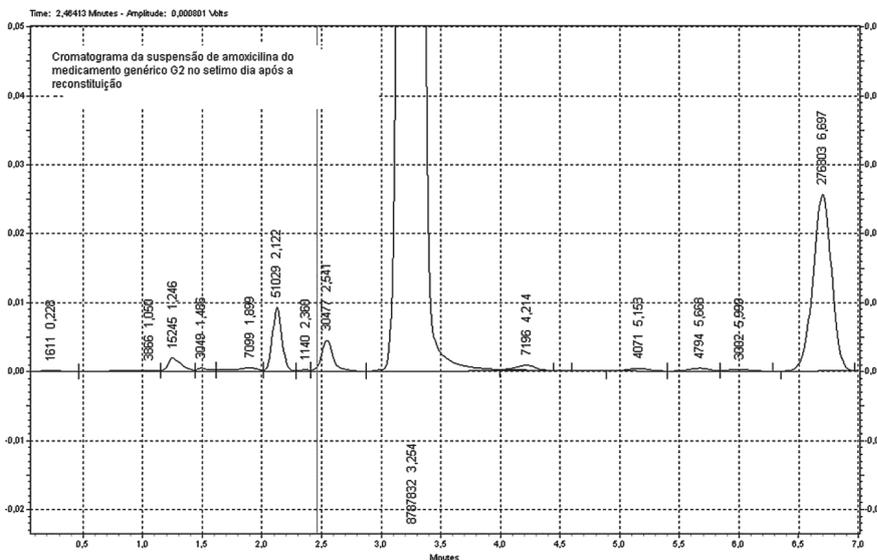
G = suspensões de medicamentos genéricos; S= suspensões de medicamentos similares; R= suspensão do medicamento referência. Valor de especificação da USP 35 ed. entre 90 e 120% do valor declarado



**Figura 3A.** Cromatograma do padrão de amoxicilina, preparado no dia, nas condições cromatográficas, fase móvel tampão fosfato monopotássico 0,05 M e metanol (95:5); temperatura 30°C, vazão 1,5 mL/min; 230 nm; coluna Hypersil C-18, 12,5x 4,6 mm com partículas de 5 µm.



**Figura 3B.** Cromatograma da suspensão de amoxicilina do medicamento referência (R) do sétimo dia após a reconstituição. Condições cromatográficas: fase móvel tampão fosfato monopotássico (0,05 M), e metanol (95:5); 30°C, fluxo 1,5 mL/min; 230 nm; coluna C-18 Hypersil, 12,5x 4,6 mm, com partículas de 5 µm.



**Figura 3C.** Cromatograma da suspensão de amoxicilina do medicamento genérico (G2) do sétimo dia após a reconstituição. Condições cromatográficas: fase móvel tampão fosfato monopotássico (0,05 M), e metanol (95:5); 30°C, fluxo 1,5 mL/min; 230 nm; coluna -18 Hypersil, 12,5 x 4,6 mm, com partículas de 5 µm

### 3.7 Resultados do ensaio de dissolução

Os valores encontrados para o ensaio de dissolução nas suspensões orais de amoxicilina 250 mg/5 mL no primeiro e sétimo dia após a reconstituição estão representados na Tabela 2 e Tabela 3, respectivamente.

As médias dos resultados do ensaio de dissolução das seis cubas de cada suspensão e as diferenças entre o primeiro e o sétimo dia estão demonstrados na tabela 4.

A figura 4 representa a variação dos resultados do teste de dissolução entre o primeiro e o sétimo dia do medicamento genérico G3, o único com resultado insatisfatório neste teste.

A fotografia da figura 5 mostra a suspensão do medicamento G3 com aglomerado formado durante o teste de dissolução do sétimo dia após a reconstituição.

**Tabela 2.** Valores liberados de amoxicilina no teste de dissolução das suspensões orais de amoxicilina 250 mg/5 mL no primeiro dia após a reconstituição das suspensões, de acordo com o método descrito na USP ed. 35, utilizando aparelho 2 (pás)

Vassels	G1	G2	G3	S1	S2	S3	R
V1	106%	88%	111%	97%	110%	111%	94%
V2	104%	99%	92%	106%	110%	110%	99%
V3	105%	100%	109%	107%	110%	113%	93%
V4	105%	96%	107%	111%	108%	115%	99%
V5	109%	95%	106%	113%	109%	106%	92%
V6	103%	101%	105%	116%	109%	101%	93%

G= genérico; S= similar; R= referência. Valor de referência da USP ed.35: cada unidade deve liberar um valor maior ou igual a Q(80%)

**Tabela 3.** Valores liberados de amoxicilina no teste de dissolução das suspensões orais de amoxicilina 250 mg/5 mL no sétimo dia após a reconstituição das suspensões, de acordo com o método descrito na USP ed. 35, utilizando aparelho 2 (pás)

Vat	G1	G2	G3	S1	S2	S3	R
V1	102%	102%	53%	103%	99%	102%	94%
V2	103%	103%	53%	103%	101%	89%	96%
V3	103%	103%	56%	103%	98%	89%	96%
V4	104%	104%	53%	105%	99%	90%	98%
V5	102%	102%	55%	104%	98%	86%	99%
V6	104%	104%	61%	104%	98%	85%	100%

G= genérico; S= similar; R= referência. Valor de referência da USP ed.35: cada unidade deve liberar um valor maior ou igual a Q(80%)

**Tabela 3.** Valores liberados de amoxicilina no teste de dissolução das suspensões orais de amoxicilina 250 mg/5 mL no sétimo dia após a reconstituição das suspensões, de acordo com o método descrito na USP ed. 35, utilizando aparelho 2 (pás)

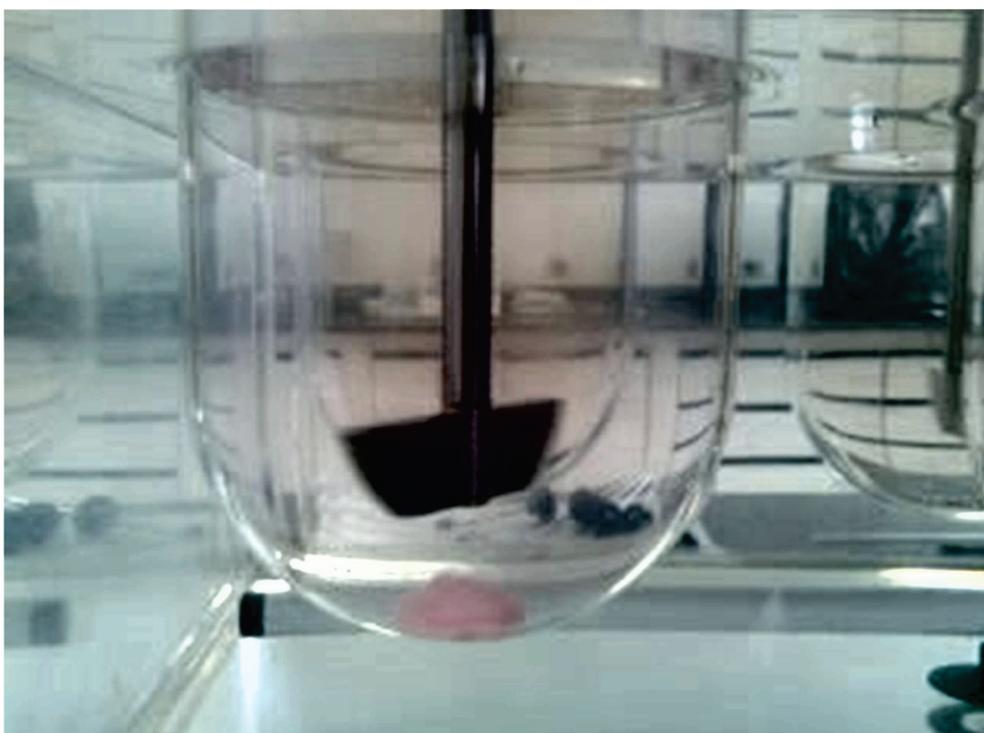
Vat	G1	G2	G3	S1	S2	S3	R
V1	102%	102%	53%	103%	99%	102%	94%
V2	103%	103%	53%	103%	101%	89%	96%
V3	103%	103%	56%	103%	98%	89%	96%
V4	104%	104%	53%	105%	99%	90%	98%
V5	102%	102%	55%	104%	98%	86%	99%
V6	104%	104%	61%	104%	98%	85%	100%

G= genérico; S= similar; R= referência. Valor de referência da USP ed.35: cada unidade deve liberar um valor maior ou igual a Q(80%)

**Tabela 4.** Resultados do teste de dissolução, expressos como média das seis cubas de cada suspensão no primeiro e sétimo dia após a reconstituição, determinados de acordo com USP ed.35

Dias	G1	G2	G3	S1	S2	S3	R
1°	105%	96%	105%	108%	109%	109%	97%
7°	103%	103%	55%	104%	99%	90%	95%
Diferenças entre o primeiro e sétimo dia.	2%	7%	50%	4%	10%	19%	2%

G= genérico; S= similar; R= referência. Valor de referência da USP ed.35: cada unidade deve liberar um valor maior ou igual a Q(80%)



**Figura 5.** Fotografia mostrando o aspecto da suspensão na cuba do dissolutor Erweka, no final do ensaio de dissolução realizado de acordo com o método 2, da USP 35 ed., no sétimo dia após a reconstituição do medicamento genérico G3.

## 5 DISCUSSÃO

Neste estudo foi utilizada água ultrapurificada para a reconstituição das suspensões, com o objetivo de eliminar possíveis interferentes como os íons metálicos cobre e ferro, entre outros comuns em água potável. Conforme reportado por Noman MA et al.<sup>14</sup> esses íons formam complexos com a molécula de amoxicilina, que rapidamente é hidrolisada formando o ácido peniciloico, o qual causa a perda da estabilidade das suspensões.<sup>14</sup> Dessa maneira, as alterações observadas nas suspensões poderão ser atribuídas à qualidade dos insumos e/ou a farmacotécnica das formulações.

A avaliação da estabilidade de apresentações farmacêuticas pó para suspensão oral extemporânea de amoxicilina 250 mg/5 mL incluiu os testes de identificação, teor de água, pH, produtos de degradação e teor do ativo. Por serem preparações extemporâneas, o estudo abrangeu a avaliação da estabilidade no período de uso, isto é, no primeiro e sétimo dia após a reconstituição da suspensão. Pequenas alterações destes parâmetros podem influenciar diretamente as propriedades farmacotécnicas destas formulações que podem ser evidenciadas por meio do ensaio de dissolução.<sup>10</sup>

Assim, na avaliação do aspecto do pó para suspensão oral de amoxicilina 250 mg/ml e da suspensão reconstituída, todas as amostras apresentaram-se homogêneas, livres de grumos, refletindo uma farmacotécnica adequada dessas formulações, quanto ao aspecto. O pó para suspensão de amoxicilina 250 mg/5 mL do medicamento similar S1 apresentou 3,7% de teor de água, acima do valor de referência da USP 35 ed.<sup>6</sup> que é de até

3%. Esta variação não influenciou no aspecto da suspensão que era homogênea, assim como dos resultados do ensaio de dissolução do primeiro e sétimo dia após a reconstituição (tabelas 2 e 3). Os valores encontrados para os outros medicamentos avaliados estavam de acordo com a especificação USP<sup>6</sup> para o teor de água.

A determinação de pH das suspensões no primeiro e sétimo dia após a reconstituição revelou pequenas alterações (figura 2). Os medicamentos genéricos (G1, G2 e G3) variaram o pH em média de 0,38; os similares (S1, S2 e S3) 0,28 e o medicamento referência obteve uma menor variação de 0,02. Os valores de pH, mesmo com alterações, atenderam às especificações da USP<sup>6</sup> (entre 5,0 a 7,5) com exceção para o medicamento similar S1, que apresentou um valor abaixo da especificação, no sétimo dia. Esta pequena alteração também não influenciou nos resultados de potência, estabilidade e no ensaio de dissolução do medicamento S1, porém a manutenção adequada do pH para o ativo na formulação farmacêutica é um requisito de qualidade importante para assegurar a estabilidade das suspensões.<sup>7</sup>

O método indicativo de estabilidade empregado para identificar e quantificar a amoxicilina<sup>12</sup> apresentou uma excelente performance, demonstrado na separação de compostos relacionados e ou degradação (figuras 3A, 3B e 3C), do padrão de amoxicilina preparado no dia, e dos medicamentos referência R e do genérico G2, respectivamente, determinados no sétimo dia após a reconstituição da suspensão. A identificação do princípio ativo foi positiva

para todas as suspensões, e os resultados de teor da amoxicilina encontrados entre 90 a 120% do valor declarado estão de acordo com a especificação da USP 35 ed.,<sup>6</sup> no primeiro e no sétimo dia após a reconstituição da suspensão.

Conforme observado na tabela 1, os medicamentos genéricos G2 e G3 e os medicamentos similares S1, S2 e S3 apresentaram uma degradação significativa da amoxicilina, em torno de 7%, 15%, 1%, 6% e 2%, respectivamente, no sétimo dia, quando comparados com os valores determinados no primeiro dia, após a reconstituição, conforme já verificado em estudos anteriores.<sup>12</sup> Este estudo realizado avaliou a estabilidade de suspensões extemporâneas no período de uso, em que a dose diária de amoxicilina é de 750 mg, correspondendo a um limite de 0,1% de produtos de degradação. Os valores encontrados para os produtos de degradação das suspensões estudadas superam os valores limites de notificação. O artigo 9º da RDC n. 58 de 20/12/2013<sup>15</sup> estabelece a necessidade de notificação, identificação e qualificação do(s) produto(s) de degradação no decorrer do estudo de estabilidade do medicamento e deverá ser avaliada com base nas informações contidas na tabela, indicando que para dose máxima diária de  $\leq 1$  g, o limite de notificação dos produtos de degradação é de 0,1%. Outro fato é que a literatura não reporta estudos a respeito de produtos de degradação da amoxicilina e dos excipientes em formulações extemporâneas.

As tabelas 2 e 3 demonstram os resultados do ensaio de dissolução das preparações extemporâneas de amoxicilina dos medicamentos estudados, no primeiro e sétimo dia após a reconstituição das suspensões. No

primeiro dia todas as formulações (tabela 2) apresentaram valores que atendem à especificação da USP,<sup>6</sup> em que cada unidade apresenta resultado maior ou igual Q(80%) no primeiro estágio. No sétimo dia, após a reconstituição (tabela 3), todas as suspensões também atenderam aos valores de especificação da USP<sup>6</sup> com exceção da suspensão do medicamento G3. As suspensões G2, S2 e S3 apresentaram uma dissolução menor da amoxicilina de 7%, 10% e 19%, respectivamente, em relação ao ensaio de dissolução do primeiro dia. A suspensão do medicamento genérico G3 no sétimo dia após a reconstituição liberou 50% menos de amoxicilina do que o primeiro dia após a reconstituição. A figura 4 apresenta a variação da dissolução da amoxicilina do medicamento G3 entre o primeiro e o sétimo dia, e a figura 5 mostra o aglomerado da suspensão na cuba no fim do ensaio de dissolução do sétimo dia do medicamento G3. A variabilidade da taxa de dissolução da amoxicilina detectada neste ensaio no sétimo dia após a reconstituição das suspensões, principalmente da suspensão do medicamento genérico G3, pode ser atribuída a problemas farmacotécnicos da formulação, uma vez que os parâmetros de identificação, teor, pH e teor de água determinados nesta formulação atenderam à especificação.

Variações nas formulações de diferentes insumos farmacêuticos ou na técnica de fabricação, conforme observado neste estudo, são críticas e foram detectadas somente por meio do ensaio de dissolução, que verificou o desempenho das formulações. Estas variáveis podem gerar diferenças na absorção, e como consequência a diminuição da resposta terapêutica esperada dos fármacos.<sup>16-18</sup>

O método de dissolução da USP 35ed.<sup>6</sup> empregado neste estudo, em que o meio de

dissolução foi a água, está de acordo com as propriedades físico-químicas, assim como o pka e solubilidade em função do pH da amoxicilina.<sup>6</sup> A aplicação do método de dissolução para suspensões de acordo com a USP utilizou o aparato 2 (pás), e de acordo com as recomendações de Marques MRC<sup>10</sup> para a reconstituição da suspensão, padronização do tempo de agitação para a suspensibilidade e do tamanho da amostra compatível com a dose terapêutica.

O teste de dissolução avalia *in vitro* de forma simplificada o processo pelo qual o fármaco é liberado da forma farmacêutica, absorvido, e se torna biodisponível.<sup>10,11</sup> Também é uma ferramenta fundamental para as várias etapas do processo de desenvolvimento de medicamentos, permitindo verificar a estabilidade, assegurar a qualidade das formulações, e garantir investigações seguras para a biodisponibilidade dos medicamentos.<sup>10</sup>

## 6 CONCLUSÃO

Este estudo verificou possíveis falhas na performance da formulação da suspensão de um dos seis medicamentos testados (genérico G3 com liberação de 50% de amoxicilina

no sétimo dia após a reconstituição, no teste de dissolução), podendo inferir problemas farmacotécnicos da formulação. Estudo anterior<sup>12</sup> também observou desvios de qualidade em medicamentos genéricos e similares em relação aos produtos de degradação (estabilidade), sendo encontrados valores até 15%, em desacordo com RDC – Anvisa nº 53/2015, que estabelece valores até 0,1% para a notificação, identificação e qualificação dos produtos de degradação formados ao longo do prazo de validade do medicamento. Destaca-se a importância da realização do estudo de estabilidade das suspensões extemporâneas no período indicado para o uso, para garantir a eficácia do tratamento antimicrobiano e prevenindo o desenvolvimento de resistência bacteriana pela redução da dose a níveis subterapêuticos devido a problemas na formulação. Programas de verificação da qualidade de medicamentos e auditorias nas indústrias efetivam o aprimoramento da qualidade dos produtos disponibilizados. Neste contexto, os resultados deste estudo poderão contribuir com informações para atualização farmacopeica nas análises de verificação da qualidade dos medicamentos.

---

---

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pronab KB, Winifred MC. Analytical Profiles of Drug Substances. New York: Klaus Florey;1978. p.19-22.
2. Martindale: The Complete Drug Reference. 34ª ed. London: Sean C Sweetman, BPharm, FR PharmS; 2005. p.115-57.
3. WHO. International Stability Testing: guidelines for stability testing of pharmaceutical products containing well established drug substances in conventional dosage forms. WHO Technical Report Series. 863, 1996. WHO. Guidelines on Stability Testing: WHO Drug Information. v. 16. n. 1. Disponível em [http://www.who.int/druginformation/vol16num1\\_2002/vlo16-1.pdf](http://www.who.int/druginformation/vol16num1_2002/vlo16-1.pdf)
4. The United States Pharmacopeia- USP-26 – The National Formulary NF 21. Rockville: United States Pharmacopeial Conventions; 2003. p. 2014-5.

5. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RE n.1 de 29/07/05 – Guia para realização de estudos de estabilidade. Brasília (DF); 2005, Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/legis/01\\_05\\_re\\_comentada.pdf](http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/legis/01_05_re_comentada.pdf). Acesso em: setembro 2015.
6. The United States Pharmacopeia-USP-35 – The National Formulary NF 30. Rockville: United States Pharmacopeial Conventions; 2013. p. 2002.
7. Hsin H, Fe-Lin LW, Fu-Chang H, Hui-Yuan Y, Shu-Wen L, Li-Jiuan S. Effectiveness of Education Programs About Oral Antibiotic Suspensions in Pediatric Outpatient Services. *Pediatr Neonatol*. 2013; 54: 34-42.
8. The Pharmaceutical Codex: Principles and Practices of Pharmaceuticals. 12 Ed., London: The Pharmaceutical Press; 1944. p.72-6.
9. Brown CK, Friedel HD, Barker AR, Buhse LF, Keitel S, Cecil TL, Kraemer J, Morris M, *et al*. FIP/AAPS Joint Workshop Report: Dissolution/In Vitro Release Testing of Novel/Special Dosage Forms. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2011; 12(2):782-93.
10. Marques MRC, Vieira PF, Souza de Barros AC. Ensaio de dissolução e comparação de perfis de dissolução. In: A Regulação de Medicamentos no Brasil. Vieira PF, Redigueri CF, Redigueri CF. [Recurso eletrônico]. Organizadores, Vieira PF, Redigueri CF, Redigueri CF. Dados eletrônicos – Porto Alegre: Armed; 2013.
11. Marques MRC. Desenvolvimento e validação de métodos de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais. *Rev. Analytica*. 2002; 1: 48-51.
12. Markman BEO, Koschtschak MRW, Meihuey EW, Rosa PCP. Evaluation of the Quality and Stability of Amoxicillin Oral Suspension. *J App Pharm Sci*. 2014; 4(07): 38-40.
13. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE n.899, de 29 de maio de 2003 ementa não oficial: Determina a publicação do “Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos”. Brasília (DF); 2003.
14. Noman MA, Almeklafi SF, Kadi HO. Effect of different sources of water on the stability of amoxicillin trihydrate oral suspension in Yemen. *Yemeni J for Med Sci*. 2007; 67-76.
15. Ministério da Saúde Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução Da Diretoria Colegiada - RDC n.53, de 04 de dezembro de 2015. Estabelece parâmetros para a notificação, identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos com substâncias ativas sintéticas e semissintéticas, classificados como novos, genéricos e similares, e dá outras providências. Brasília (DF);2015.
16. Ammar HO, Khalil RM. Discrepancy among dissolution rates of commercial tablets as a function dissolution method. Part 6: Rifampicin. *Pharmazie*. 1996; 51: 165-8.
17. Ammar HO et al. Discrepancy among dissolution rates of commercial tablets as a function dissolution method. Part 7: Aspirin. *Pharmazie*. 1997; 52: 145-9.
18. Vieira FP, Redigueri CF, Redigueri CF, (Organizador). A regulação de medicamentos no Brasil, 2013. In: Marques MRC; Vieira FP; Barros ACS. Ensaio de dissolução e comparação de perfis de dissolução. Porto Alegre: Artmed, 2013. Disponível em: Desenvolvimento de um teste de dissolução para comprimidos de nimesulida em meio que assegure condições sink