

INTRODUÇÃO

O mesilato de gemifloxacino (Figura 1 – MGF) é um agente antimicrobiano de amplo espectro de ação, pertencente à classe das fluorquinolonas. No Brasil ele é comercializado na forma de comprimidos revestidos de 320 mg. Não há monografia oficial para análise de MGF nessa forma farmacêutica e a literatura apresenta poucos trabalhos publicados de determinação qualitativa e quantitativa do fármaco, realizados principalmente por nosso grupo de pesquisa. Em vista disso, este trabalho tem por objetivo validar o método por eletroforese capilar de zona livre (EC) para quantificação de MGF em comprimidos revestidos.

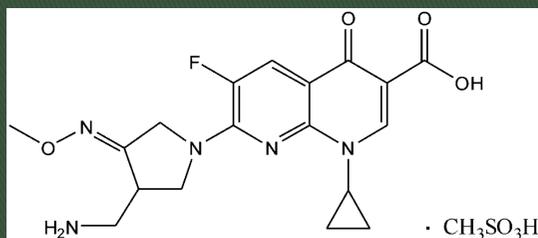


Figura 1. Estrutura química do MGF

METODOLOGIA

O método foi desenvolvido e validado utilizando equipamento de eletroforese capilar Agilent® com detector UV. O controle do equipamento, aquisição e análise de dados foi realizado utilizando software CE ChemStation.

No desenvolvimento do método foram testadas diversas condições experimentais a fim de se obter as condições ótimas de ensaio, descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Condições eletroforéticas otimizadas para quantificação de MGF nos comprimidos revestidos por EC.

Parâmetro	Descrição
Eletrólito	Solução tampão borato de sódio 25 mM pH 10,0
Pré-condicionamento	NaOH 0,1 M (2 min.), água (2 min.) e eletrólito (2 min.)
Capilar	40 cm de tamanho efetivo com diâmetro de 50 µm
Voltagem	30 KV
Modo e tempo de injeção	Hidrodinâmica por pressão de 6 s
Deteção	220 nm, detector de arranjo de fotodiodos
Temperatura do capilar	30 °C
Padrão interno	Ácido salicílico

A validação do método analítico foi realizada de acordo a RE 899/03 e o ICH, 2005, avaliando-se os seguintes parâmetros analíticos: especificidade, linearidade, exatidão, precisão (intermediária e repetibilidade) e robustez.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

✓ Especificidade

A especificidade do método por EC foi avaliada por meio da verificação da interferência dos excipientes da formulação, de uma impureza de síntese e de estudos de degradação forçada: hidrólise ácida, hidrólise básica, degradação oxidativa, degradação por calor e degradação fotolítica. Na Figura 2 estão apresentados os eletroferogramas do ensaio de especificidade.

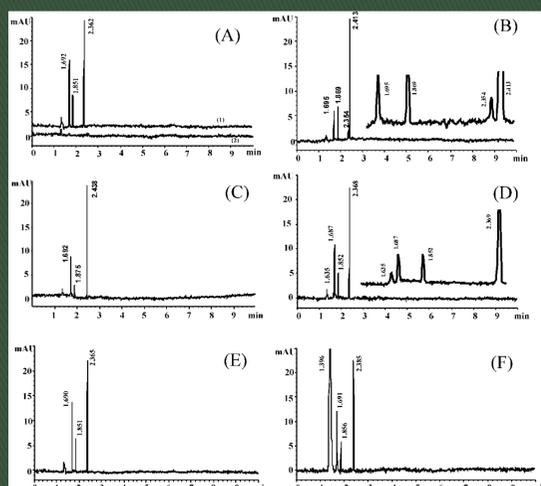


Figura 2. (A) MGF (T_R : 1,69 min.), sua impureza de síntese (T_R : 1,85 min.) e padrão interno de ácido salicílico (T_R : 2,36 min.); (B) após exposição a NaOH 0,01 M; (C) após exposição a HCl 0,1 M; (D) após degradação fotolítica (352 nm por 15 min); (E) após degradação térmica (60°C por 64h); e, (F) após degradação oxidativa com H_2O_2 30%.

A análise da especificidade revelou que o método por EC não mostrou qualquer interferência pelos excipientes da formulação, assim como dos produtos de degradação formados nas condições de estresse. A análise da pureza dos picos, realizada utilizando o software do equipamento, demonstrou que os produtos formados e a impureza de síntese não interferiram na quantificação do MGF.

✓ Linearidade

Foram preparadas 3 curvas padrão (Figura 3) utilizando 7 concentrações de solução padrão de MGF (10,0 – 80,0 mg/mL). Os resultados, analisados estatisticamente utilizando a ANOVA, demonstraram linearidade adequada, regressão linear significativa e que não há desvio da linearidade ($\alpha = 0,05$).

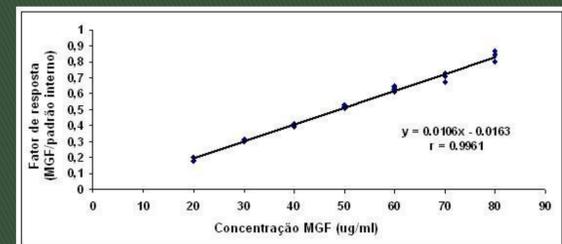


Figura 3. Representação gráfica da curva padrão, da equação da reta e do coeficiente de correlação da SQR de MGF obtidos por EC.

✓ Precisão

A precisão do método analítico foi avaliada através da repetibilidade e da precisão intermediária (Tabela 2).

Tabela 2. Resultados da repetibilidade e precisão intermediária de MGF.

Analito	Repetibilidade – Valores médios % (n=6)			Precisão intermediária
	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Valores médios % (n=18)
MGF	98,89	98,37	100,03	99,10
DPR%	1,92	1,81	1,75	1,86

Os resultados obtidos demonstram que o método analítico desenvolvido mostrou-se preciso em termos de repetibilidade e precisão intermediária, pois os valores de DPR obtidos apresentaram-se inferiores aos preconizados de 2,0%.

✓ Exatidão

A exatidão do método analítico foi realizada através da comparação de leituras de soluções padrão contendo os excipientes da formulação com soluções padrão sem a presença dos excipientes na faixa de 80 a 120% da concentração teórica. Os valores obtidos para a exatidão do método para o MGF variaram de 98,10 a 99,34%, demonstrando a exatidão do método analítico desenvolvido.

✓ Robustez

A robustez foi avaliada variando o eletrólito (tipo de tampão, concentração molar e pH), voltagem (10 – 30 kV), comprimento de onda de detecção e temperatura do capilar (20 – 30°C).

O método pode ser considerado robusto porque nenhum dos fatores analisados teve um efeito significativo ($\alpha = 0,05$) nas condições estudadas.

CONCLUSÃO

O método analítico desenvolvido e validado utilizando eletroforese capilar apresenta especificidade, linearidade, precisão, exatidão e robustez, ou seja, é adequado para análise quantitativa de MGF em comprimidos revestidos.

REFERÊNCIAS

- ANVISA. Resolução nº899 de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Diário Oficial da União, 2003.
- BLONDEAU, J. M., TILLOTSON, G. 2007. Gemifloxacin for the management of community-acquired respiratory tract infections. *Antibiotiques*. 9: 173 – 180.
- FDA. Food and Drug Administration. Information prescribing. Disponível em: http://www.fda.gov/medwatch/safety/2007/May_PI/Factive_PI.pdf Acesso em 16.11.2007.
- ICH – International Conference on the Harmonization: Guideline on Validation of Analytical methods: text and methodology Q2(R1) ICH Steering Committee, Switzerland, 2005.