

# Acompanhamento do comportamento físico-químico e microbiano da suspensão de mebendazol

## Attendance in microbial and physicochemical behavior of mebendazole suspension

Ana Julia Pereira Santinho<sup>1</sup>; Simone Bortolan dos Santos<sup>2</sup> & Daniela Omoto Piratelli<sup>3</sup>

**RESUMO** – O mebendazol é suscetível à decomposição química; sua suspensão esteve disponível no Hospital Universitário (HU) de Presidente Prudente ainda que seu prazo de validade não fosse determinado. O objetivo deste trabalho foi acompanhar o comportamento físico-químico e microbiano da suspensão oral de mebendazol preparada para uso no HU. A suspensão de mebendazol foi preparada (n=3), envasada e armazenada à 22°C durante 12 meses. As amostras foram submetidas a determinação de pH, análise por absorção de UV e testes de limite microbianos. Todos os testes foram realizados mensalmente de acordo com a Farmacopéia Brasileira. Constatou-se uma variação no valor de pH em 0,2 unidades, ao passo que a quantidade, em mg, de mebendazol na porção de suspensão foi mantida de acordo com os requisitos farmacopéicos. Testes microbianos demonstraram ausência de bactérias aeróbias totais; porém, fungos e leveduras se apresentaram dentro do limite da farmacopéia. Isto justifica o desenvolvimento do odor desagradável, indicando algum problema com o sistema conservante. Por fim, pode-se sugerir que a suspensão oral de mebendazol descrita e avaliada neste trabalho deve ser consumida em 30 dias se mantida à 22°C. Não obstante, para aumentar o prazo de validade seria necessário adequar o pH da formulação em relação ao conservante usado.

**PALAVRAS-CHAVE** – Estabilidade; controle de qualidade microbiológico; controle de qualidade físico-químico; mebendazol.

**SUMMARY** – Mebendazole is susceptible to chemical decomposition, its suspension has been available in the University Hospital (UH) of Presidente Prudente though there was not been determined its shelf life. The aim of the study was to attendance the microbial and physicochemical behavior of mebendazole oral suspension prepared for use in the UH. Mebendazole suspension was prepared (n=3), packed and stored at 22°C for 12 months. Samples were submitted at pH determination, UV absorption analysis and microbial limit tests. All tests were performed monthly in accordance to Brazilian Pharmacopoeia. The pH value changed on 0.2 units as long as the quantity in mg of mebendazole in the portion of suspension in agreement to pharmacopoeial requires. Microbial tests demonstrated absence of bacterial specimens, however yeast and molds were presented into the pharmacopoeial limit. It should justify the development of unpleasant flavor, indicating some problem with the preservative system. It could suggest that the shelf life was found to be 30 days at 22°C. As to increase the shelf life it would be necessary to adequate the pH formulation in relation of preservative system.

**KEYWORDS** – Stability; Microbial quality control; physicochemical quality control; mebendazole.

### INTRODUÇÃO

As suspensões constituem um grupo importante de formas farmacêuticas. Estes sistemas dispersos apresentam muitos desafios do ponto de vista de formulação, estabilidade, preparação e embalagem (Patel, Kennon & Levinson, 2001).

Em paralelo, Patel, Kennon & Levinson (2001) definiram suspensões como sistemas heterogêneos constituídos por duas fases. A fase contínua (líquida ou semi-sólida) e a fase dispersa, é constituída por partículas sólidas insolúveis na fase contínua, porém dispersadas na primeira. Assim, quase todos os sistemas suspensos se separam quando em equilíbrio. A maior preocupação do formulador é não eliminar a separação das fases, e sim, diminuir a velocidade de sedimentação permitindo fácil redispersibilidade da ma-

téria sólida sedimentada, sendo que essa deve permanecer suficientemente homogênea durante pelo menos o período de tempo necessário para remover e administrar a dose correta, após seu recipiente ter sido agitado.

Várias são as razões para o uso de suspensões orais e uma delas é a de ter maior estabilidade em relação às soluções. Além disto, a alguns pacientes que têm dificuldade em deglutir comprimidos e cápsulas, é preferível administrar a forma líquida, e no caso das suspensões, as partículas não dissolvidas evitam o sabor desagradável do fármaco, pois, esta forma farmacêutica pode ser flavorizada e edulcorada (Ansel, Popovich & Allen Jr., 2000; Ferreora, 2000).

Nesse sentido, foi realizada a preparação de suspensões magistrais de mebendazol e o acompanhamento do perfil de degradação química e do crescimento

Recebido em 15/12/2005

<sup>1</sup>Farmacêutica, Doutora em Ciências Farmacêuticas, Docente do Curso de Farmácia da UNOESTE e Orientadora de trabalho de Conclusão de Curso

<sup>2</sup>Acadêmica da Faculdade de Farmácia e Bioquímica de Presidente Prudente da Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE – SP

<sup>3</sup>Acadêmica da Faculdade de Farmácia e Bioquímica de Presidente Prudente da Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE – SP

microbiano, bem como, de alterações físicas da suspensão, considerando as condições de preparação, envase e armazenamento dos lotes.

Schueller *et al.* (1993) comentaram que o dado de estabilidade é útil como um "sistema antecipado de aviso" que pode alertar sobre um problema potencial relacionado à formulação ou à embalagem. Este tipo de informação pode ser útil para guiar o pré-formulador durante o desenvolvimento do produto e prevenir o fabricante sobre problemas que poderão ocorrer após a compra pelo consumidor e para garantir que o produto permanecerá esteticamente aceitável com o "desempenho" desejado e seguro ao consumidor.

As condições ambientais, tais como, temperatura e umidade elevadas, luz intensa e radiações são comuns, por isso é importante a armazenagem em recipientes adequados. A temperatura elevada, especialmente se associada com umidade relativa elevada, causa e acelera a deterioração física e a degradação química (Lackman, Hanna & Lin, 2001).

Dentre os mecanismos de degradação química dos fármacos estão: oxidação, hidrólise, redução, fotólise e racemização. A maioria das interações que promovem alterações ou rearranjos moleculares não é visivelmente observável.

Segundo Ansel, Popovich & Allen (2000), a hidrólise é um processo de solvólise no qual a molécula de uma substância interage com moléculas de água, degradando-a, sendo esta a causa mais importante e freqüente de degradação de fármacos em meio líquido. (Vadas, 2005). Isto se deve a presença assídua de grupos funcionais, tais como ésteres e amidas, em diferentes classes terapêuticas. Dentre os fatores que catalisam a hidrólise de preparações farmacêuticas estão pH, temperatura, umidade e cristalização (Ferreira, 2001).

De acordo com Ferreira (2001), pode-se observar que a estrutura química do mebendazol é susceptível à hidrólise (Figura 1).

Adicionalmente, as farmacopéias trazem o teste de estabilidade microbiológica para contagem de microrganismos viáveis em medicamentos não estéreis dentro dos limites permitidos para cada produto, levando o controle de qualidade a ter maiores atribuições sobre as matérias-primas. Isso se deve à possibilidade de contaminação de produtos não estéreis com microrganismos patogênicos ou indesejáveis, tais como espécies de *Salmonella*, *Escherichia coli*, certas espécies de *Pseudomonas* e *Staphylococcus aureus* (Lackman, Hanna & Lin, 2001).

O objetivo do presente trabalho compreendeu a preparação magistral de uma suspensão oral de mebendazol, cujo comportamento físico-químico e microbiológico foi acompanhado por um ano, a fim de determinar se a formulação proposta apresentava estabilidade físico-química e microbiana de acordo com os requisitos farmacopéicos nacionais.

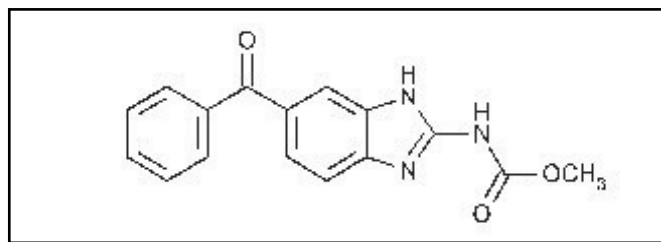


FIG. 1 - Estrutura química do mebendazol

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Preparação do mebendazol em suspensão

Num béquer de 2000mL, dispersou-se 1,25g de carboximetilcelulose e 1,25g de celulose microcristalina em sorbitol 70% e adicionou-se 100mL de propilenoglicol. Em outro béquer (250mL), solubilizou-se o lauril sulfato de sódio em 50mL de água destilada (co-solvente) à 80°C e adicionou-se 1g de benzoato de sódio. Pesou-se o mebendazol (20mg/mL) considerando a porcentagem de pureza e adicionou-se aos poucos no béquer de 2000mL, sob agitação mecânica por 10 minutos. Adicionou-se o conteúdo do béquer menor ao béquer maior, acrescentou-se 0,05mL de corante e 5mL de flavorizante e completou-se o volume com sorbitol 70% para 1000mL. Acondicionou-se em frascos de vidro âmbar previamente higienizados com álcool 70%, tampados e armazenados sob temperatura controlada de 22°C por 12 meses, de onde foram retiradas amostras mensais para determinação do pH, contagem de microrganismos viáveis totais (estabilidade microbiológica) e doseamento (estabilidade química).

### Teste de Estabilidade

#### Aspectos organolépticos

A avaliação dos aspectos organolépticos demonstram a integridade preliminar do medicamento e sua identificação. Esse teste foi realizado observando características como odor, cor e sabor do mebendazol suspensão oral (F. Bras. IV, parte I).

#### Determinação do pH

Primeiramente, aferiu-se o equipamento nos pHs 4,1 e 7,0 utilizando-se os tampões de biftalato de potássio (0,05mol/L) e fosfato equimolar (0,05mol/L), respectivamente. Em seguida, lavou-se o eletrodo com água destilada, enxugou-se com papel absorvente e verificou-se o pH das amostras que deveria apresentar-se na faixa de 4,0 - 7,5, conforme F. Bras. IV, parte I.

#### Doseamento

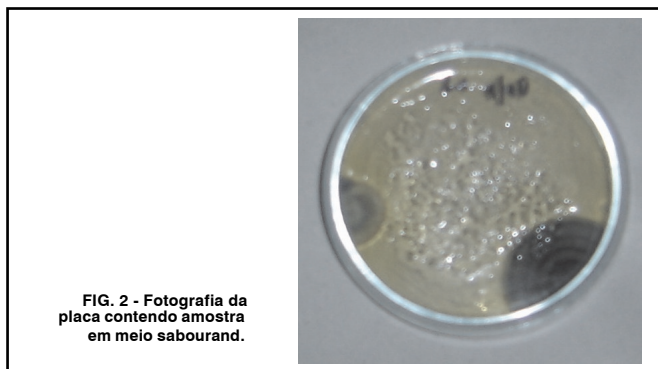
A farmacopéia nacional (F. Bras. IV, parte II) descreve que o mebendazol (C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>) deve conter, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>, em relação à substância dessecada. Já a suspensão oral deve conter no mínimo 90% e no máximo 110%, da quantidade declarada de mebendazol. Realizou-se o doseamento da matéria-prima ativa e da suspensão oral a saber:

#### Mebendazol (F. Bras. IV)

Doseou-se a matéria-prima por titulação em meio não aquoso, onde pesou-se, exatamente 0,225g da amostra e dissolveu-se em 30mL de ácido acético glacial. Titulou-se com HClO<sub>4</sub> 0,1mol/L SV onde determinou-se o ponto final potenciométricamente. Realizou-se o ensaio branco e fez-se as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1mol/L equivale a 29,530mg de mebendazol.

#### Suspensão oral de mebendazol (F. Bras. IV)

Doseou-se a quantidade, em mg, de mebendazol na suspensão oral por espectrofotometria de absorção no UV, onde transferiu-se o volume da amostra equivalente a 100mg, ou seja 5mL de suspensão de mebendazol para o balão volumétrico de 50mL. Adicionou-se 15mL de ácido fórmico e agitou, completou-se o volume com ácido fórmico. Transferiu-se 5mL desta solução para o balão volumétrico de 50mL, adicionou-se 5mL de ácido clorídrico 0,1mol/L, agitou-se e com-



pletou-se o volume com isopropanol. Preparou-se a solução padrão na mesma concentração, utilizando-se os mesmos solventes. Mediu-se as absorvâncias das soluções resultantes em 310nm, utilizando-se ácido clorídrico 0,1mol/L e isopropanol (1:9) para o ajuste do zero. Calculou-se o teor de mebendazol na amostra a partir das leituras obtidas.

#### Análise microbiológica

A determinação foi efetuada através do Método de contagem em placa para fungos e pelo Método de tubos múltiplos para bactérias, empregando técnicas assépticas na amostragem e na execução do teste e utilizando diluição que permitiu que o número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) se encontrasse dentro dos limites sugeridos para o método a ser usado. É válido considerar que a contagem de microrganismos viáveis na suspensão oral de mebendazol é, no máximo, de 1000 UFC/mL para bactérias aeróbias totais e de 100 UFC/mL para fungos e leveduras (F. Bras. IV, parte I).

#### Método de contagem em placa

Adicionou-se a cada placa de Petri 1 mL da mistura de amostra e cerca de 20mL de Meio Sabourand liquefeito à 45°C. Diluiu-se a amostra de maneira que o número de colônias não ultrapassasse 100 por placa. Preparou-se, uma placa para cada diluição e incubou-se à temperatura ambiente por 7 dias. Contou-se o resultado empregando placas com maior número de colônias.

**Contagem de colônias** – Somente as placas que apresentaram até 100 colônias para fungos foram consideradas para registro dos resultados. Calculou-se a média aritmética de cada diluição a partir dos valores obtidos das placas. Calculou-se o número de microrganismos por g ou mL para cada diluição, multiplicando-se o número de colônias da placa pela diluição usada e relatou-se a média aritmética dos resultados. Expressou-se os resultados como UFC/mL.

#### Método dos tubos múltiplos

Foram empregados tubos de ensaio contendo 9mL de Meio TSB líquido adicionado de substância neutralizante (Tween 80), os quais receberam 1mL de amostra (1:10). Subseqüentemente, preparou-se diluições 1:100 e 1:1000 a partir da diluição 1:10, onde empregou-se uma série de 11 tubos, contendo 9mL de TSB. Aos três primeiros tubos, adicionou-se 1mL da amostra diluída, dissolvida ou homogeneizada, na proporção de 1:10, conforme descrito nos métodos anteriores. Aos três tubos seguintes, adicionou-se 1mL da diluição 1:100 da amostra e aos próximos três tubos, 1mL da diluição 1:1000 da amostra. Incubou-se os tubos a 37°C durante 24 ho-

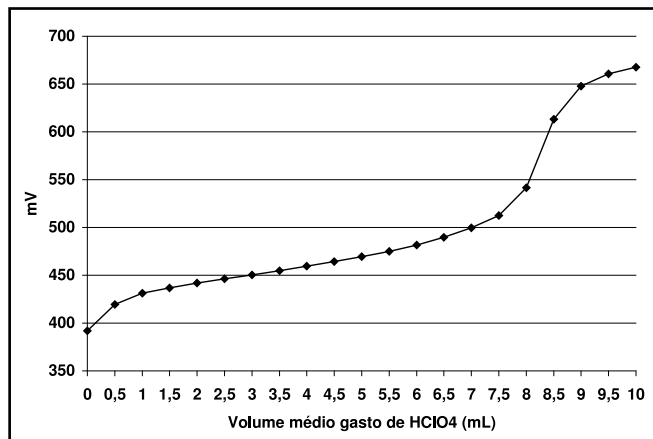


GRÁFICO 1 - Doseamento do mebendazol por titulação potenciométrica usando ácido perclórico 0,1mol/L (fator de correção, Fc = 0,95).

ras. Anotou-se como positivos os tubos que apresentaram-se turvos. Este ensaio foi realizado em triplicata.

#### Análise Estatística

Realizou-se análise estatística para cada dado coletado em triplicata, os quais foram expressos como média ± desvio-padrão da média (DP) (Doria Filho, 1999).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O doseamento da matéria-prima revelou que o mebendazol apresentou-se dentro dos limites de pureza estabelecidos pela F. Bras. IV, parte II. Isto se deve ao cálculo da primeira derivada proveniente da titulação potenciométrica conforme mostra o Gráfico 1.

Com base no Gráfico 1, considerou-se 8,25mL de HClO<sub>4</sub> como ponto de viragem para resolução da equação 1:

EQUAÇÃO 1:

Volume gasto de HClO<sub>4</sub> (mL) x Fc x 29,53mg mebendazol

$8,25 \times 0,95 \times 29,53 = 231,44\text{mg}$  de mebendazol

Considerando a massa inicialmente pesada de 225mg, determinou-se:

$$\frac{231,44}{225} \times 100 = 102,86 \% \text{ de pureza}$$

TABELA I  
Variação do pH das amostras em função do tempo

Tempo (meses)	pH da amostra (±DP)
0	6,67 ± 0,06
1	6,75 ± 0,05
2	7,39 ± 0,15
3	6,73 ± 0,23
4	6,64 ± 0,50
5	6,61 ± 0,08
6	6,53 ± 0,18
7	6,45 ± 0,24
8	6,20 ± 0,02
9	6,83 ± 0,06
10	6,59 ± 0,15
11	6,33 ± 0,11
12	6,50 ± 0,27

Já o doseamento da suspensão oral revelou que a formulação proposta manteve o teor de substância ativa, 100%, durante todo o período experimentado. Isto pode ser atribuído a ausência de processos de clivagem hidrolítica na molécula de mebendazol, bem como quaisquer outros processos de degradação química, indicando que o produto apresentou estabilidade química nas condições ora citadas.

Adicionalmente, constatou-se uma pequena variação nos valores de pH das amostras como pode ser observado na **Tabela I** (p.26). Entretanto, esses dados se apresentaram dentro da faixa de 4,0 - 7,5, demonstrando que o comportamento da formulação proposta está de acordo com os requisitos farmacopeicos (F. Bras. IV, parte II), fato que vem confirmar os dados obtidos a partir do doseamento.

Em paralelo, os testes de contagem microbiana mostraram ausência de UFC/mL de bactérias aeróbias totais. Em contrapartida, pode-se observar na **Figura 1** a presença, embora inconstante, de UFC/mL de fungos e leveduras nas amostras, fato que pode ser explicado associando-se o método utilizado com a natureza aeróbia ou não de certos fungos.

Diante disto, entende-se que a formulação proposta não apresentou estabilidade microbiana, sinalizando que o conservante usado não apresentou atividade antifúngica, ocorrência constatada pelo mau odor desenvolvido na suspensão em questão. A propósito, o espectro antimicrobiano dos conservantes depende tanto da concentração quanto do pH do ambiente em que se apresenta (Ferreira, 2000). Vale a pena lembrar que o conservante utilizado no presente trabalho foi o benzoato de sódio e que suas propriedades bacteriostáticas e antifúngicas são melhores em meio ácido (pH 2,0 - 5,0), ao passo que em condições alcalinas é quase sem efeito (Rowe; Sheskey; Weller, 2001). Baseando-se nessas considerações, fica evidente que a ação conservante do benzoato de sódio foi comprometida pelo pH da formulação, que foi de aproximadamente 6,63, conforme pode ser observado na **Tabela I** previamente apresentada.

Por fim, pode-se sugerir que a suspensão oral de mebendazol não sofreu degradação química, porém não apresentou estabilidade microbiana. Seria necessário, para tanto, adequar o pH da formulação para 5,0, para que o benzoato de sódio apresente atividade antimicrobiana e a suspensão se mantenha dentro dos requisitos farmacopeicos. No entanto, isto implicaria no acompanhamento do comportamento físico-químico e microbiológico por mais 1 ano, a fim de determinar se a formulação proposta permaneceu estável de acordo com os requisitos farmacopeicos nacionais.

Alternativamente, pode-se empregar outro sistema conservante como, por exemplo, metilparabeno e propilparabeno, que exibem atividade antimicrobiana na faixa de pH 4,0 - 8,0 (Rowe; Sheskey; Weller, 2003). Além disso, Okeke *et al.* (2003) relataram que preparações extemporâneas de cloridrato de hidralazina flavorizadas exibiram estabilidade inferior àquelas não flavorizadas, embora este fato não esteja relacionado ao crescimento microbiano. Sugere-se, portanto, que a suspensão oral de mebendazol descrita e avaliada neste trabalho deve ser consumida em 30 dias se mantida à 22°C.

## CONCLUSÃO

Em conclusão, pode-se dizer que a formulação proposta apresentou estabilidade química, porém não apresentou estabilidade microbiana, devendo ser consumida em 30 dias se mantida à 22°C. Adicionalmente, sugere-se o emprego de um sistema conservante compatível com o pH da suspensão ou a redução do pH da formulação para que o benzoato de sódio desempenhe sua ação antimicrobiana.

## REFERÊNCIAS

1. Ansel, H.C.; Popovich, N.G.; Allen Jr., L.V. Farmacotécnica Formas Farmacêuticas & Sistemas de Liberação de Fármacos. 6a ed. São Paulo: Premier, 2000.
2. Doria Filho, U. Introdução à Bioestatística: para Simples Mortais. 2ª ed. São Paulo: Negócio, 1999.
3. Farmacopéia Brasileira. 4ª ed. São Paulo: Atheneu, 1988. Parte I.
4. Farmacopéia Brasileira. 4ª ed. São Paulo: Atheneu, 1996. Parte II, fascículo I.
5. Ferreira, A.O. Discussão de Critérios para Determinação de Prazo de Validade em Preparações Magistrais. Revista Anfarmag. n.30, p.36-41, 2001.
6. Ferreira, A.O. Guia Prático da Farmácia Magistral. Juiz de Fora, 2000.
7. Lachman, L.; Hanna, S.A.; Lin, K. Controle e Garantia de Qualidade. In: Lachman, L.; Lieberman, H.A.; Kanig, J.L. Teoria e prática na Indústria Farmacêutica. v. II. Lisboa: Calouste Gulbenkian, 2001. p.1357-1439.
8. Okeke, C.C. et al.. Stability of Hydralazine Hydrochloride in both Flavored and Nonflavored Extemporaneous Preparations. Int. J. Pharm. Compounding, n.4, p.313-319, 2003.
9. Patel, N.K.; Kennon, L.; Levinson, S.R. Suspensões. In: Lachman, L.; Lieberman, H.A.; Kanig, J.L. Teoria e prática na Indústria Farmacêutica. Lisboa: Calouste Gulbenkian, 2001. p.819-853.
10. Rowe, R.C.; Sheskey, R.J.; Weller, R.J. Handbook of pharmaceutical excipients. Washington, DC USA, Pharmaceutical Press, American Pharmaceutical Association, 2001. CD.
11. Shueller, R. *et al.* Estabilidade: testar ou não testar. Cosmetics & Toiletries n.5, p.35 - 38, 1993.
12. The United States Pharmacopeia. The united states pharmacopeial convention. 24ª ed. Inc. Rockville, MD, USA, 2000. CD.
13. Vadas, E.B. Estabilidade de Produtos Farmacêuticos. In: GENNARO, A. R. Remington: A Ciência e a Prática da Farmácia. Rio de Janeiro Guanabara Koogan; 2005. 20ª ed.
14. Zanini, A.C.; Oga, S. Farmacologia aplicada. 5ª ed. São Paulo: Atheneu, 1994.

### Endereço para correspondência

Simone Bortolan dos Santos,  
Rua Carlos César Rosa, 12 Jd., Icaray CEP: 19060-550  
e-mail: sibortolan@yahoo.com.br