



LUCAS DE GODOY FERRÃO

**FORMULAÇÃO TRANSDÉRMICA CONTENDO ENROFLOXACINO:
DESENVOLVIMENTO E TESTES PRELIMINARES PARA AVALIAÇÃO DA
ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA**

**Uruguiana
2018**

LUCAS DE GODOY FERRÃO

**FORMULAÇÃO TRANSDÉRMICA CONTENDO ENROFLOXACINO:
DESENVOLVIMENTO E TESTES PRELIMINÁRES PARA AVALIAÇÃO DA
ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Farmácia da Universidade Federal do Pampa, como requisito para a obtenção da graduação de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof. Dra. Fabiana Ernestina Barcelos Silva

**Uruguiana
2018**

LUCAS DE GODOY FERRÃO

**FORMULAÇÃO TRANSDÉRMICA CONTENDO ENROFLOXACINO:
DESENVOLVIMENTO E TESTES PRELIMINÁRES PARA AVALIAÇÃO DA
ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Farmácia da
Universidade Federal do Pampa, como
requisito para a obtenção da graduação de
Bacharel em Farmácia.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 06/07/2018
Banca Examinadora:

Fabiana Ernestina Barcelos Silva

Prof. Dra. Fabiana Ernestina Barcelos Silva
Orientadora
UNIPAMPA

Leticia Marques Colomé

Prof. Dra. Leticia Marques Colomé
UNIPAMPA

Marcelo Donadei Malesuik

Prof. Dr. Marcelo Donadei Malesuik
UNIPAMPA

*Aos meus pais, irmãos e namorada
por serem meu porto seguro
nesta árdua caminhada.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me proporcionar viver grandes oportunidades em minha vida. Aos meus pais, Elenara e Sandro, por todo incentivo, amor e compreensão durante todos esses anos. Aos meus irmãos, Bruna e Pedro, por sempre estarem ao meu lado me aturando quando necessário e renovando minhas energias para que eu pudesse continuar. A minha namorada Yasmin, por sempre estar disposta a me ajudar, por mais que compreendesse tudo mais rápido e tivesse que me explicar novamente. Aos meus sogros e cunhados, Cristiane, Odilon, Sabrina e Bernardo que de certo modo corroboraram muito para meu crescimento. Obrigado por fazerem parte desta minha caminhada. Amo vocês!

Um agradecimento especial a minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Fabiana Ernestina Barcellos da Silva, pelos ensinamentos passados a mim ao longo do curso e durante a elaboração deste trabalho. Muito obrigado pela dedicação!

Aos professores e colegas do LDCQ ou “casinha 3”, em especial as colegas Gabriela e Andressa, por me aturarem a cada dia de teste, obrigado pela parceria, pela ajuda e pelas conversas sempre regadas a muita informação, e claro, muito café ou chá.

Agradeço também a Mestranda Tamara, por todo apoio e disponibilidade para me ajudar na realização de alguns testes.

Ao Prof. Dr. Elton e Prof^a. Dr^a. Cleci, por disponibilizarem seus laboratórios para que eu pudesse realizar os devidos testes propostos.

Aos professores Dr. Marcelo Donadel Malesuik e Dr^a. Leticia Marques Colomé por aceitarem o convite para fazerem parte da minha banca. Enfim, agradeço a todos que contribuíram de alguma forma para a realização e concretização deste trabalho.

*Não deixe que as pessoas te façam desistir daquilo
que você mais quer na vida. Acredite. Lute
. Conquiste. E acima de tudo, seja feliz!*

Autor:Desconhecido

FOLHA DE APRESENTAÇÃO

O presente Trabalho de Conclusão de Curso, intitulado **FORMULAÇÃO TRANSDÉRMICA CONTENDO ENROFLOXACINO: DESENVOLVIMENTO E TESTES PRELIMINÁRES PARA AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA** está apresentado no formato de Trabalho Acadêmico, e seguirá as normas conforme “Manual para Elaboração e Normalização de Trabalhos Acadêmicos – conforme normas ABNT”.

(Assinatura do orientador)

(Assinatura da aluno)

Uruguiana, ____ de _____ de _____.

RESUMO

O enrofloxacino é um antimicrobiano pertencente à classe fluoroquinolonas, sendo utilizado na prática veterinária no tratamento de doenças respiratórias e infecções gastrointestinais em animais de pequeno e grande porte. O enrofloxacino está disponível comercialmente na forma injetável e de comprimidos, não sendo encontrado na forma semissólida. Entre as formulações semissólidas, aquela que permite a administração por via transdérmica mostra-se como eficaz na administração de medicamentos de uso veterinário, já que não possui os inconvenientes da administração oral. Entretanto, além da determinação da permeação cutânea e biodisponibilidade deste tipo de forma farmacêutica, são necessários estudos que envolvam o desenvolvimento farmacotécnico em conjunto com estudos de estabilidade, tanto do ativo inserido como da base utilizada na formulação. Entre as bases disponíveis para administração de ativos por via transdérmica podemos citar o Pentravan[®], que é uma emulsão óleo em água que permite a permeação transdérmica, uma vez que se trata de uma matriz fosfolipídica. O presente estudo teve como ênfase a preparação, caracterização e avaliação preliminar da estabilidade físico-química, de uma formulação semissólida de enrofloxacino 0,5% utilizando a base Pentravan[®] como veículo. Diferentes solventes foram avaliados para solubilização do enrofloxacino e posterior incorporação na base. A caracterização da formulação foi realizada a partir dos seguintes testes: aspecto visual, tamanho de partícula, perfil reológico, perfil espectral (na região do Infravermelho Médio), perfil por calorimetria diferencial de varredura (DSC) e análise microscópica. A estabilidade da formulação foi avaliada preliminarmente após armazenagem da formulação nas temperaturas de 30°C e 45°C e determinação do perfil reológico em um intervalo de 10 dias, por um período de 30 dias. No presente estudo pode-se concluir que o modo de incorporação, bem como o solvente de solubilização do fármaco influenciaram nas características da formulação, alterando aspectos importantes como tamanho de partícula e viscosidade.

Palavras-chave: Enrofloxacino, Pentravan[®], Estabilidade.

ABSTRACT

Enrofloxacin is an antimicrobial belonging to the fluoroquinolones class and is used in veterinary practice in the treatment of respiratory diseases and gastrointestinal infections in small and large animals. Enrofloxacin is available commercially in tablet and injectable form and is not found in the semisolid form. Among the semi-solid formulations, that which allows transdermal administration is shown to be effective in administering veterinary medicinal products, since it does not have the drawbacks of oral administration. However, in addition to the determination of cutaneous permeation and bioavailability of this type of pharmaceutical form, studies involving pharmacotechnical development are required together with stability studies of both the inserted active as well as the base used in the formulation. Among the bases available for transdermal administration of active substances we can mention Pentravan®, which is an oil-in-water emulsion that allows transdermal permeation, since it is a phospholipid matrix. The present study emphasized the characterization and preliminary evaluation of the physical-chemical stability of a semi-solid formulation of enrofloxacin 0.5% using the Pentravan® base as vehicle. Different solvents were evaluated for solubilization of enrofloxacin and subsequent incorporation into the base. The characterization of the formulation was performed from the following tests: visual aspect, particle size, rheological profile, spectral profile (in the region of the Middle Infrared), differential scanning calorimetry profile (DSC) and microscopic analysis. The stability of the formulation was preliminarily evaluated after storage of the formulation at temperatures of 30 ° C and 45 ° C and determination of the rheological profile every 10 days for a period of 30 days. In the present study it can be concluded that the mode of incorporation as well as the solubilizing solvent of the drug influenced the characteristics of the formulation, changing important aspects such as particle size and viscosity.

Key words: Enrofloxacin, Pentravan®, Stability.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Síntese do DNA bacteriano e atuação de algumas classes de antibacterianos	14
Figura 2: Estruturas e equilíbrio de ionização do enrofloxacino.	15
Figura 3: Espectro do enrofloxacino	25
Figura 4: Espectro do enrofloxacino, da base Pentravan [®] e da amostra de enrofloxacino 0,5% em base Pentravan [®]	26
Figura 5: Distribuição do tamanho de partícula para a base Pentravan [®]	27
Figura 6: Distribuição do tamanho de partícula para a amostra.....	28
Figura 7: Gráficos da base Pentravan [®] e da amostra com comportamento pseudoplástico e tixotropia.....	29
Figura 8: Fotomicrografias da amostra e da base Pentravan onde: A=Base Pentravan, B e C= Amostra no tempo zero, D e E=Amostra no tempo 10 dias e temperatura de 30°C, F e G= Amostra no tempo 10 dias e temperatura de 45°C, H e I = Amostra no tempo 20 dias e temperatura de 30°C, J e K= Amostra no tempo 20 dias e temperatura de 45°C, L e M= Amostra no tempo 30 dias e temperatura de 30°C, N e O= Amostra no tempo 30 dias e temperatura de 45°C.....	30
Figura 9: Curva de DSC referente à base Pentravan [®]	32
Figura 10: Curva de DSC referente à amostra.	32
Figura 11: Perfil reológico de amostras armazenadas em 30°C por 30 dias.	33
Figura 12: Perfil reológico de amostras armazenadas em estufa a 45°C por 30 dias. ...	34
Tabela 1: Escala para análise microscópica da amostra.	23
Tabela 2: Diâmetro e Span da amostra (Enrofloxacino +Base) e da base Pentravan....	27
Tabela 3: Avaliação microscópica das fotomicrografias.	31

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 USO DE QUINOLONAS NO TRATAMENTO DE INFECÇÕES.....	13
2.2 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE MEDICAMENTOS DE USO VETERINÁRIO	15
2.3 FORMAS FARMACÊUTICAS TRANSDÉRMICAS.....	15
2.4 BASE TRANSDÉRMICA PENTRAVAN [®]	16
2.5 ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DE SEMI-SÓLIDOS.....	18
3 OBJETIVOS	19
3.1 OBJETIVO GERAL	19
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
4.1 EQUIPAMENTOS.....	20
4.2 MATÉRIA PRIMA.....	20
4.3 PREPARO DA FORMULÇÃO SEMI-SÓLIDA CONTENDO ENROFLOXCINO	20
4.4 CARACTERIZAÇÃO DA FORMULÇÃO SEMI-SÓLIDA CONTENDO ENROFLOXCINO	21
4.4.1 Aspecto visual.....	21
4.4.2 Perfil por espectrofotometria no infravermelho médio.....	21
4.4.3 Determinação do tamanho de partícula.....	22
4.4.4 Perfil reológico.....	22
4.4.5 Análise microscópica	23
4.4.6 Perfil por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	23
4.5 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DA FORMULAÇÃO..	24
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5.1 IDENTIFICAÇÃO DO ENROFLOXACINO.....	25
5.2 PREPARO DA FORMULÇÃO SEMI-SÓLIDA CONTENDO ENROFLOXCINO	25
5.3 ASPECTO VISUAL	26
5.4 PERFIL DA AMOSTRA POR ESPECTROFOTOMETRIA NO	

INFRAVERMELHO	26
5.5 DETERMINAÇÃO DO TAMANHO DE PARTÍCULA	27
5.6 PERFIL REOLÓGICO	28
5.7 ANÁLISE MICROSCÓPICA	29
5.8 PERFIL POR CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC)	31
5.9 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DA FORMULAÇÃO..	33
5.9.1 Perfis reológicos das amostras	33
6 CONCLUSÃO	35
7 PERSPECTIVAS FUTURAS	36
REFERÊNCIAS.....	37

1 INTRODUÇÃO

O enrofloxacino é um antibiótico pertencente à classe fluoroquinolonas, sendo utilizado na prática veterinária no tratamento de doenças respiratórias e infecções gastrointestinais em animais de pequeno e grande porte (MARTINEZ, MCDERMOTT, WALKER, 2006). O enrofloxacino está disponível comercialmente na forma injetável e comprimidos, não sendo encontrado na forma semissólida.

Entre as formulações semissólidas, aquelas que permitem a administração por via transdérmica podem ser eficazes para administração de medicamentos de uso veterinário, já que não possuem os inconvenientes da administração oral. Entretanto, além da determinação da permeação cutânea e biodisponibilidade deste tipo de forma farmacêutica são necessários estudos que envolvam o desenvolvimento farmacotécnico em conjunto com estudos de estabilidade tanto do ativo inserido bem como da base utilizada na formulação.

Entre as bases disponíveis para administração de ativos por via transdérmica podemos citar o Pentravan[®], que é uma emulsão óleo em água que permite a permeação transdérmica, uma vez que se trata de uma matriz fosfolipídica (ALMEIDA, K., et al., 2014). Esta base encontra-se disponível comercialmente e, segundo o fabricante, possui elevada afinidade com a pele.

Diferentes autores desenvolveram formulações semissólidas contendo enrofloxacino na concentração de 0,5% utilizando o Pentravan[®] como base transdérmica (KIRILOV et al, 2015; DUCROTTÉ-TASSEL et al, 2016 e 2017). Entretanto não foram encontrados na literatura estudos que caracterizem a formulação e avaliem a sua estabilidade físico-química.

Desta forma, este trabalho tem por objetivo desenvolver formulação transdérmica contendo enrofloxacino 0,5% utilizando a base Pentravan[®] como veículo bem como avaliar a estabilidade física da formulação por um período de 30 dias, nas temperaturas de 30°C e 45°C.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 USO DE QUINOLONAS NO TRATAMENTO DE INFECÇÕES

Na década de 1980, após intensas pesquisas realizadas a partir das primeiras quinolonas, deu-se origem as denominadas quinolonas de segunda geração, as fluoroquinolonas (APPELBAUM., 2000).

As fluoroquinolonas diferenciam das quinolonas de primeira geração por possuírem a combinação de um átomo de flúor e um grupo piperazinil. As principais representantes deste grupo são: enrofloxacino (uso veterinário), norfloxacin, ciprofloxacina, ofloxacina, lomefloxacina e a perfloxacina. Esta associação levou a um maior espectro de ação, aumentando a capacidade das quinolonas penetrarem na parede bacteriana levando, conseqüentemente, a uma melhor atividade contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, atingindo um perfil farmacocinético melhor (SOUSA, 2007).

O enrofloxacino é um antibiótico sintético derivado das fluoroquinolonas com atividade de amplo espectro, amplamente utilizado em medicina veterinária. Esta fluorquinolona foi a primeira desenvolvida para aplicação veterinária, sendo utilizada para o tratamento em bovinos, suínos, aves, cães e gatos (SOUZA et al., 2006; ELMAS et al., 2007). Possui rápida absorção, metabolização e distribuição no organismo. O seu mecanismo de ação se dá através da inibição das topoisomerasas bacterianas do tipo II, também conhecidas como DNA girase, impossibilitando a extensão do espiralamento das cadeias de DNA, levando à morte bacteriana. Porém, devido à sua elevada toxicidade, não é utilizado na medicina humana (RANG et al., 2004; BARREIRO & FRAGA, 2008). A Figura 1 mostra o ciclo da síntese do DNA bacteriano e alguns grupos de antibacterianos atuantes, incluindo as fluorquinolonas.

O enrofloxacino foi a primeira fluorquinolona desenvolvida especialmente para o uso veterinário sendo prescrita com sucesso desde 1989 devido englobar muitas espécies de animais e disponibilizada no mercado em diferentes formas farmacêuticas como comprimidos, solução oral e injetável. No entretanto são poucos os estudos os quais relatam sobre avaliação da estabilidade deste fármaco inserido nas diferentes formas farmacêuticas.

O enrofloxacino encontra-se disponível comercialmente em diferentes concentrações e formas farmacêuticas, entre elas podemos citar: comprimidos (Baytril®),

Centril[®], Enropet[®], Duotrill[®], Zelotril[®] e Biofloxacin[®]) e injetáveis (Baytril[®], Flotril[®] e Enrofloxacin[®]). Não estão disponíveis comercialmente formulações semissólidas contendo enrofloxacin. Neste contexto, uma formulação semissólida utilizando base transdérmica como veículo poderia configurar como uma alternativa para a liberação sistêmica deste fármaco.

É um fármaco com baixa solubilidade em água e pHs ácido. O principal metabólito ativo do enrofloxacin é o ciprofloxacin, ambos possuem caráter anfótero, com valores de pK_{a1} entre 5,5 e 6,0 e pK_{a2} entre 7,7 e 8,7. O equilíbrio de ionização para o enrofloxacin é apresentado na Figura 2 e é válido para outras fluorquinolonas com grupos piperanzila em sua estrutura (TURIEL et al., 2003).

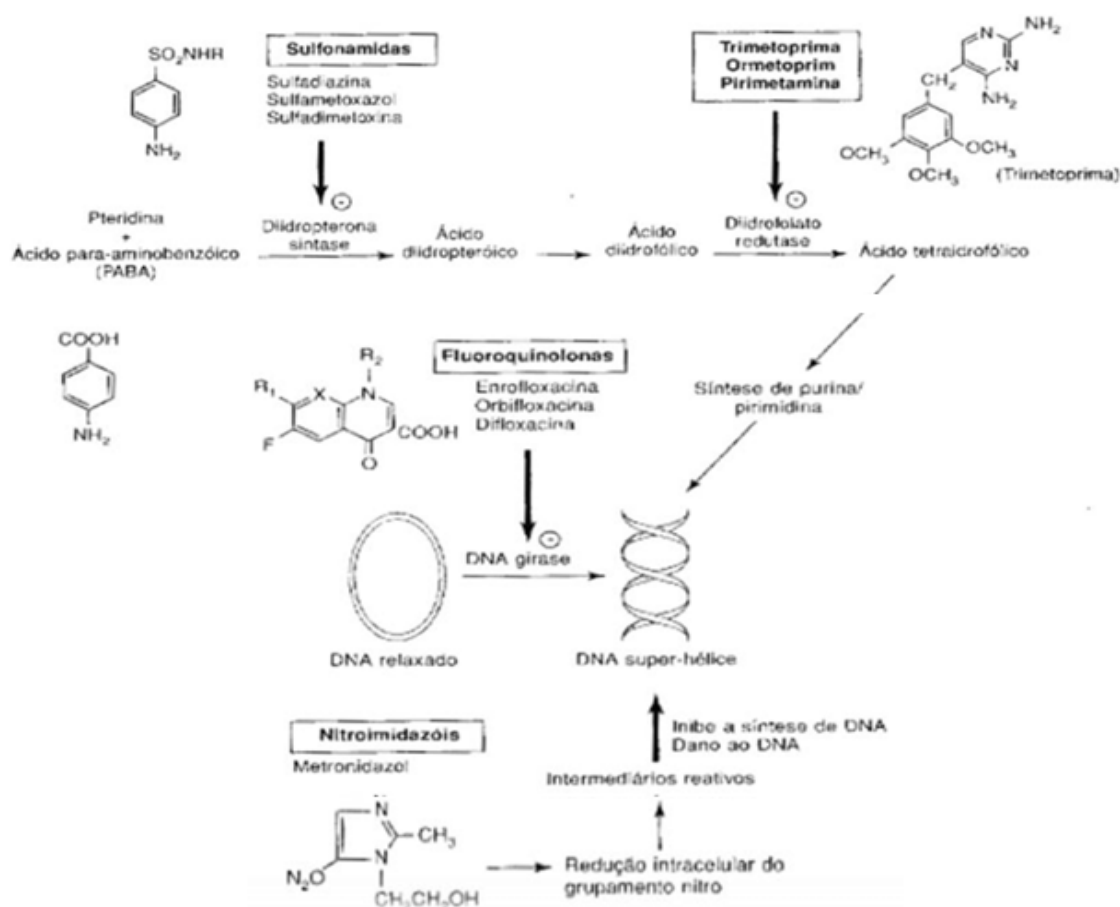


Figura 1: Síntese do DNA bacteriano e atuação de algumas classes de antibacterianos. Fonte: Websres(2005).

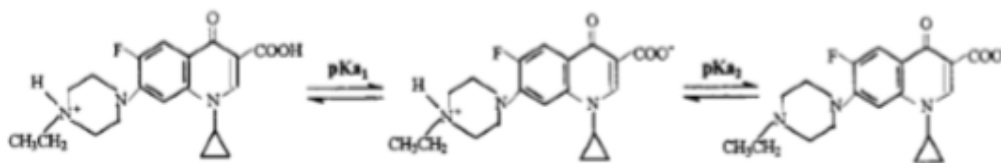


Figura 2: Estruturas e equilíbrio de ionização do enrofloxacin.

2.2 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE MEDICAMENTOS DE USO VETERINÁRIO

Um dos aspectos que culminou para o desenvolvimento do controle e qualidade em uma indústria farmacêutica diz respeito a validação de metodologias que irão atestar a qualidade do produto final. Entre as metodologias a serem desenvolvidas para controle de qualidade podemos citar aquelas aplicadas à matéria-prima como identificação, pureza, presença de substâncias relacionadas e àqueles referentes ao controle de qualidade do produto final como determinações físico-químicas (FORESTI, G et al, 2015). A indústria farmacêutica de produtos veterinários no Brasil possui regulamentos sobre as Boas Práticas de Fabricação estabelecidas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (FORESTI, G et al, 2015). Mundialmente, um dos setores que regulamenta e orienta a produção e controle de qualidade de medicamentos de uso veterinário é o VICH (International Cooperation on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medicinal Products) (VICH, 2006).

2.3 FORMAS FARMACÊUTICAS TRANSDÉRMICAS

O primeiro sistema transdérmico foi oficialmente aprovado em 1979 pelo FDA (Food and Drug Administration) e tem o nome Transderm Scop®. Este medicamento tinha como função prevenir náusea e vômito associados a viagens, em especial as marítimas (ANSEL HC et al., 1999). Corriqueiramente esta formulação através de seu modo de administração tem se destacado na indústria farmacêutica, e em 2007 estimou-se a produção de um bilhão de medicamentos transdérmicos no mundo (ROCKVILLE MD. 2007).

Atualmente, estes produtos são bem aceitos como uma forma de conseguir a liberação de medicamentos para o sistema circulatório através da pele (PRAUSNITZ MR et al., 2004). Em relação à produção desta forma farmacêutica, diferentes métodos estão descritos na literatura tanto em escala industrial quanto magistral e estes medicamentos podem estar disponíveis em diversas formas como adesivos, lipossomas e microemulsões. Cada uma destas formas tem características e funções específicas que são levadas em conta no desenvolvimento da formulação (PRAUSNITZ MR et al., 2008; KOGAN A et al., 2006).

A medicação por via transdérmica consiste na aplicação de uma forma farmacêutica semissólida sobre a pele com consequente liberação e absorção do fármaco por permeação cutânea. Após esta etapa, o fármaco atinge tecidos subjacentes ou mesmo a corrente sanguínea, para uma absorção sistêmica, não sofrendo assim metabolismo de primeira passagem (PRISTA, L. N et al., 2008; VIANNA, D. R et al., 2010). Diferentes bases transdérmicas são disponibilizadas no mercado farmacêutico como carreadores e/ou promotores de absorção para fármacos (GILMAN AG et al., 2004), dentre elas podemos citar a Pentravan[®] e Organogel.

2.4 BASE TRANSDÉRMICA PENTRAVAN[®]

O Pentravan[®] é uma emulsão de óleo em água que usa tecnologia lipossomal para garantir sua reprodutibilidade e penetração transdérmica de ingredientes farmacêuticos ativos. Esta base possui algumas vantagens, tais como: facilidade de preparação, boa estabilidade física, evita efeito de primeira passagem hepática e impossibilita possíveis interações do fármaco com o alimento e com a flora intestinal (ALLEVATO et al, 2007). Suas características organolépticas são: creme denso amarelo, com leve odor de lecitina, sendo que, sua coloração pode variar, de amarelo claro ao amarelo escuro, devido a presença de lecitina (FAGRON[®]).

A formulação desta base é composta pelos seguintes constituintes: miristato de isopropila, lecitina (soja), palmitato isopropílico, hidroxitolueno butilado (BHT), simeticona, uréia, sorbato de potássio, estearato de polioxil 40, ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), álcool cetílico, álcool esteárico, monoestearato de glicerina, ácido sórbico, ácido benzóico, carbômero 940 e tampão com ácido clorídrico (FAGRON[®], 2018). Esta base destaca-se por ser uma das alternativas de veículo em formulação transdérmica por ser uma emulsão pronta para uso. Apresenta praticidade na vinculação

do fármaco ao veículo, além de ser semelhante à camada fosfolipídica da pele, tornando-a compatível e permeável.

Existe na literatura diversos estudos que comprovam a eficácia da Pentravan® em relação a sua permeabilidade. Estes estudos demonstram que essa emulsão pode ser veiculada a testosterona, progesterona, estriol, 17β-estradiol, cetoprofeno, ciclobenzaprina, nifedipina e resveratrol, os quais obtiveram penetrabilidade satisfatória, sendo esses já disponíveis no mercado (ALMEIDA et al., 2014).

A incorporação de enrofloxacino na base Pentravan® foi estudada por Kirilov et al. (2015) e Ducroté-Tassel et al. (2016 e 2017). O primeiro autor investigou a absorção percutânea do enrofloxacino, a partir de duas formulações transdérmicas, creme Pentravan® e organogel LMOG por meio de testes *ex-vivo* na pele de orelha de porco de duas formulações contendo 0,5% de enrofloxacino. Em intervalos apropriados até 120 h, amostras de difusão foram tomadas e analisadas usando ensaios de CLAE. Perfis de permeação foram estabelecidos e neste estudo *ex-vivo*, os valores de fluxo foram de 0,35 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ para Pentravan® e 1,22 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ para organogel LMOG, correspondendo respectivamente a 7,9% e 29,3% de enrofloxacino absorvido após 120 h. O tempo de latência (Tlag) de Pentravan® e organogel foi de 6,32 e 0,015 h, respectivamente. O tempo de absorção para atingir a concentração do fármaco (2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) no receptor, foi de 60 h com Pentravan® e 30 h com o organogel, sugerindo uma terapia medicamentosa mais eficaz com este último. O enrofloxacino contido no organogel mostrou-se uma melhor absorvidade na pele da orelha do porco do que a Pentravan®. Este estudo demonstrou que o organogel é uma base transdérmica que também serve como alternativa para as formulações semissólidas, sendo eficaz na liberação das mesmas. O segundo analisou a permeação *in vitro* do enrofloxacino, sendo este administrado percutaneamente na pele de uma serpente (*Python molurus bivittatus*), usando uma célula de Franz. Esta formulação foi baseada na incorporação de enrofloxacino 0,5% em veículo transdérmico Pentravan®. A quantidade de fármaco absorvida através da pele foi analisada em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Este estudo confirmou que o fármaco pode ser absorvido através da pele de cobras e investigou a via percutânea como uma nova opção de administração de drogas no tratamento de serpentes. Em 2017 Ducroté-Tassel publicou um artigo enbasado no de 2016, onde realizou testes *in vivo* em serpentes, complementando assim seu primeiro trabalho.

Entretanto não foram encontrados na literatura estudos que avaliem a estabilidade físico-química destas formulações contendo enrofloxacino.

2.5 ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DE SEMI-SÓLIDOS

A estabilidade pode ser definida como a amplitude na qual um produto mantém dentro de limites especificados, as mesmas propriedades e características que possuía após a fabricação, durante o seu período de armazenamento e uso. Sua avaliação faz-se necessária para assegurar a qualidade da formulação, desde a fabricação até a expiração do prazo de validade (BRASIL, 2004). Vários fatores podem comprometer a estabilidade físico-química e microbiológica de um sistema emulsionado, como a escolha de constituintes incompatíveis, tipo e concentração de emulsificantes, velocidade de agitação, tempo de aquecimento e arrefecimento, quantidades das fases, temperatura e ambiente de estocagem e contaminação por microrganismos (SILVA, SOARES, 1996; SCHUELLER, ROMANOWSKI, 2000). Desta forma, para formulações semissólidas contendo bases transdérmicas, além da avaliação da permeação e ação farmacológica do ativo, faz-se necessário um estudo de viabilidade desta forma farmacêutica do ponto de vista farmacotécnico, incluindo avaliações sobre o modo de incorporação do fármaco na base bem como estudos de estabilidade físico-química das formulações. Entre os testes que podem auxiliar na avaliação destas formulações podemos citar: Perfil por Espectrofotometria no Infravermelho e Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), determinação do tamanho da partícula, avaliação do perfil reológico, análise microscópica e determinação do teor por CLAE.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver formulação transdérmica contendo enrofloxacino 0,5% utilizando a base Pentravan[®] como veículo, bem como avaliar preliminarmente a estabilidade física da formulação.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar diferentes métodos de incorporação do enrofloxacino na base transdérmica, bem como o uso de solventes para solubilização.

- Caracterizar a formulação a partir dos seguintes testes: aspecto visual, análise por microscópica ótica, tamanho de partícula, perfil espectral (na região do Infravermelho Médio), perfil por calorimetria diferencial de varredura e perfil reológico.

- Avaliar a estabilidade da formulação nas temperaturas de 30°C e 45°C por meio do perfil reológico.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 EQUIPAMENTOS

Os seguintes equipamentos foram utilizados na execução deste trabalho:

- Balança Analítica Shimadzu[®], modelo AY 220;
- Agitador magnético Fisatom[®], modelo 753^a;
- Espectrofotômetro IR Perkin Elmer[®], modelo Lambda 35;
- Microscópio Óptico Olympus[®] modelo CX 21;
- Analisador de tamanho de partícula Mastersizer 2000SM;
- Viscosímetro Brookfield;
- Estufa Nova Ética, modelo 400/ND;

4.2 MATÉRIA PRIMA

- Enrofloxacino com teor declarado de 99,98% de fabricação 13/12/2017 e validade de seis meses) adquirido na empresa PharmaVet (Uruguaiana-RS). Esta matéria-prima foi caracterizada a partir do teste de identificação por espectrometria no infravermelho médio.

- Base transdérmica Pentravan[®] (fabricação 01/08/2017 e validade 01/08/2020) fabricada pela empresa Fagron e adquirida na empresa Vida Farma – Farmácia de Manipulação (Uruguaiana-RS).

- Etoxidiglicol (Transcutol[®]), (fabricação 13/12/2017 e validade 11/06/2018) adquirido na empresa Dermaroma (Uruguaiana-RS).

4.3 PREPARO DA FORMULÇÃO SEMI-SÓLIDA CONTENDO ENROFLOXCINO

No preparo da amostra foram testados os solventes hexano, metanol, etanol e etoxidiglicol (Transcutol[®]) com o objetivo de solubilizar o enrofloxacino para posterior incorporação na base transdérmica. Esta etapa teve por objetivo avaliar os diferentes solventes de solubilização visto que o enrofloxacino possui baixa solubilidade em meio aquoso (TURIEL et al., 2003). Após este procedimento, foram pesados 2g de

enrofloxacino e adicionou-se 6,5 mL de etoxidiglicol. Esta dispersão foi homogeneizada durante 20 minutos em agitador magnético. Após o término desta etapa, a dispersão foi adicionada geometricamente à 400 g da base Pentravan[®] mediante homogeneização em agitador de pás por 30 minutos. Devido a trabalhos descritos na literatura, o qual descreve a concentração de 0,5% do ativo na base como adequada para atingir a concentração plasmática necessária para sua ação farmacológica, foi feita a incorporação do fármaco na base nesta concentração, após a determinação do solvente mais adequado para solubilização/dispersão.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DA FORMULAÇÃO SEMI-SÓLIDA CONTENDO ENROFLOXCINO

A amostra foi caracterizada a partir dos ensaios descritos abaixo:

4.4.1 Aspecto visual

Na análise do aspecto visual foi observada a coloração e a separação de fases das formulações mantidas a 30°C e 45°C no intervalo de 10 dias por um período de 30 dias. A separação de fases foi observada visualmente a partir do fundo do frasco.

4.4.1.1 Perfil por espectrofotometria no infravermelho

Para identificar a amostra foi utilizado espectrometria de infravermelho médio utilizando o método por reflexão atenuada (FTIR-ATR). O espectro da formulação foi comparado com o espectro do enrofloxacino SQR (na forma de pó) e do enrofloxacino solubilizado com o solvente a ser escolhido.

O espectro foi coletado na faixa entre 4000 a 650 cm^{-1} utilizando um espectrômetro Perkin Elmer modelo Frontier.

4.4.2 Perfil por espectrofotometria no infravermelho médio

Para caracterizar a amostra foi utilizado espectrometria de infravermelho médio utilizando o método por reflexão atenuada (FTIR-ATR). O espectro da formulação foi comparado com o espectro do enrofloxacino SQR (na forma de pó) e da base

Pentravan[®]. O espectro foi coletado na faixa entre 4000 a 650 cm⁻¹ em espectrômetro Perkin Elmer modelo Frontier.

4.4.3 Determinação do tamanho de partícula

O diâmetro médio e a distribuição de tamanho de partícula foram determinadas pela técnica de difratometria a laser, utilizando o equipamento Mastersizer 2000 (Malvern[®]). Cada 100 mg da amostra foi dispersa em 2mL de água destilada e submetida a agitação por 3 minutos em um agitador vórtex. Após este procedimento, 100 µL da amostra foi diluída em 100 mL de água destilada no amostrador do equipamento. As análises foram realizadas em triplicata e foi utilizado como parâmetro para distribuição de tamanho de partícula o diâmetro médio baseado no volume ($d_{4,3}$). Para a determinação do índice de polidispersão (SPAN) foram utilizados os parâmetros de distribuição acumulada de 10%, 50% e 90% ($d_{0,1}$, $d_{0,5}$, $d_{0,9}$, respectivamente) para o cálculo através da equação 1:

$$SPAN = \frac{d_{0,9} - d_{0,1}}{d_{0,5}}$$

4.4.4 Perfil reológico

Na avaliação do perfil reológico foi utilizado um viscosímetro de Brookfield, onde foi definido o *spindle* a ser utilizado bem como a taxa de cisalhamento adequada para traçar o perfil reológico. O perfil reológico foi também avaliado para as formulações armazenadas em estufa a 30°C e 45°C por um período de 30 dias (em intervalos de 10 dias). Na avaliação da viscosidade foram testados diferentes *spindles* (RV-06, RV-07, SC4-21, SC4-27, SC4-28, e SC4-29) nas velocidades entre 10 e 130 rpm, com decréscimo da velocidade na mesma escala, obtendo-se o perfil reológico. As medidas foram realizadas em duplicata, para as duas referidas temperaturas citadas.

4.4.5 Análise microscópica

A amostra foi analisada por microscopia ótica no aumento de 400x, utilizando visualização mediante câmera Olympus® SC30, modelo U-TV0.63XC. As fotomicrografias foram avaliadas quanto ao formato da fase interna do sistema, dispersão das gotículas, bem como sobre a presença de agregados ou floculados na formulação. As amostras foram realizadas nos tempos 0, 10, 20 e 30, em duplicata com temperaturas de 30°C e 45°C.

As características foram avaliadas através de uma escala, conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1: Escala para análise microscópica da amostra.

Escala	Aspecto
0	Maioria das gotículas com dispersão heterogênea e formação de aglomerados.
1	Maioria das gotículas com dispersão heterogênea, sem formação de aglomerados.
2	Maioria das gotículas dispersas de forma homogênea e formação de aglomerados.
3	Maioria das gotículas dispersas de forma homogênea, sem formação de aglomerados.

Fonte: (MACHADO., 2013)

4.4.6 Perfil por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

A DSC é uma técnica que mede temperatura e fluxo de calor associados a transições em materiais como uma função do tempo e da temperatura em uma atmosfera controlada. Avalia diferentes mudanças de uma propriedade física de uma substância e/ou de seus produtos de reação em função da temperatura e do tempo (DENARI, 2012). Os procedimentos para a análise por DSC foram realizados após adição de cerca de 2 mg da amostra em cadinho de alumínio, o qual foi hermeticamente fechado utilizando um sistema de prensa seladora do mesmo. O cadinho de alumínio foi acondicionado ao forno do equipamento e analisado até 600°C. A análise foi feita no equipamento modelo DSC-60, marca SHIMADZU.

4.5 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DA FORMULAÇÃO

A importância das análises de reologia foi baseada na capacidade de avaliar a estabilidade físico-química da emulsão provendo dados pertinentes à estrutura do produto e de acompanhar as modificações decorrentes dos processos de desestabilização (TADROS, 2004). Mudanças nas propriedades reológicas de emulsões representam importantes alertas precoces de iminente falha do produto (KORHONEN et al; 2001).

A estabilidade físico-química foi avaliada mediante o teste de perfil reológico (conforme descrito no item, 4.4.3) em duas temperaturas diferentes, 30°C e 45°C, por um período de 30 dias, em intervalos de 10 dias. As amostras (25g) foram acondicionadas em frascos plásticos e mantidas em estufas com temperatura controlada. Após o período definido as amostras foram analisadas em duplicata.

A determinação da viscosidade aparente e taxa de cisalhamento foram efetuadas em um viscosímetro rotacional Brookfield, modelo DV-II+ PRO, utilizando o software Rheocalc V3.2 (Brookfield Engineering Labs).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 IDENTIFICAÇÃO DO ENROFLOXACINO

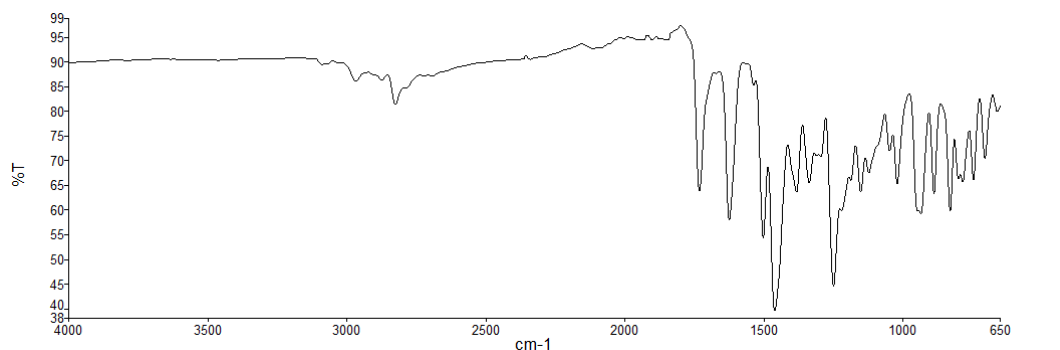


Figura 3: Espectro do enrofloxacino

Para a identificação do fármaco a ser incorporado na base foi utilizado a espectrometria no infravermelho médio com identificação dos principais picos referentes à estrutura química. De acordo com o espectro, os principais picos referentes à estrutura química estavam presentes, conforme comparação com a literatura (PubChem).

5.2 PREPARO DA FORMULAÇÃO SEMI-SÓLIDA CONTENDO ENROFLOXCINO

Após a avaliação da solubilidade do enrofloxacino em diferentes solventes, foi escolhido o etoxidiglicol como meio para solubilização do mesmo. A solubilidade encontrada do enrofloxacino no etoxidiglicol foi de 0,1 mg/mL, caracterizando-se como um dos solventes mais adequados devido sua natureza lipofílica. Neste caso, para a produção de 400 g da formulação seria necessário solubilizar 2g de enrofloxacino em 20 mL de etoxidiglicol. Entretanto, ao adicionar esta solução à base Pentravan® foi observada uma diminuição da consistência o que tornou inviável sua utilização no limite de solubilidade do enrofloxacino. Desta forma, optou-se por utilizar uma dispersão do fármaco neste meio na concentração de 0,3 mg/mL, e posterior incorporação desta dispersão na base, em volume suficiente para não alterar a sua consistência. Sendo realizado então conforme o item 4.3 dos materiais e métodos.

5.3 ASPECTO VISUAL

A amostra apresentou coloração pérola, com aspecto brilhoso após a incorporação do ativo. Na temperatura de 30°C as mesmas características foram mantidas, decorridos os 30 dias de estudo. Já a amostra mantida em estufa a 45°C apresentou coloração amarelada e opaca em comparação com as amostras mantidas à 30°C.

As amostras mantidas à 30°C não apresentaram separação de fases. Já as amostras mantidas à 45°C apresentaram separação de fases (representando 3,33% da volume total da amostra) a partir do 10º dia de análise.

5.4 PERFIL DA AMOSTRA POR ESPECTROFOTOMETRIA NO INFRAVERMELHO

Para identificar a amostra foi utilizado espectrometria de infravermelho médio utilizando o método por reflexão atenuada (FTIR-ATR), o qual não requer preparo da amostra. O espectro da formulação foi comparado com o espectro do enrofloxacin SQR (na forma de pó) e do enrofloxacin solubilizado com o solvente a ser escolhido.

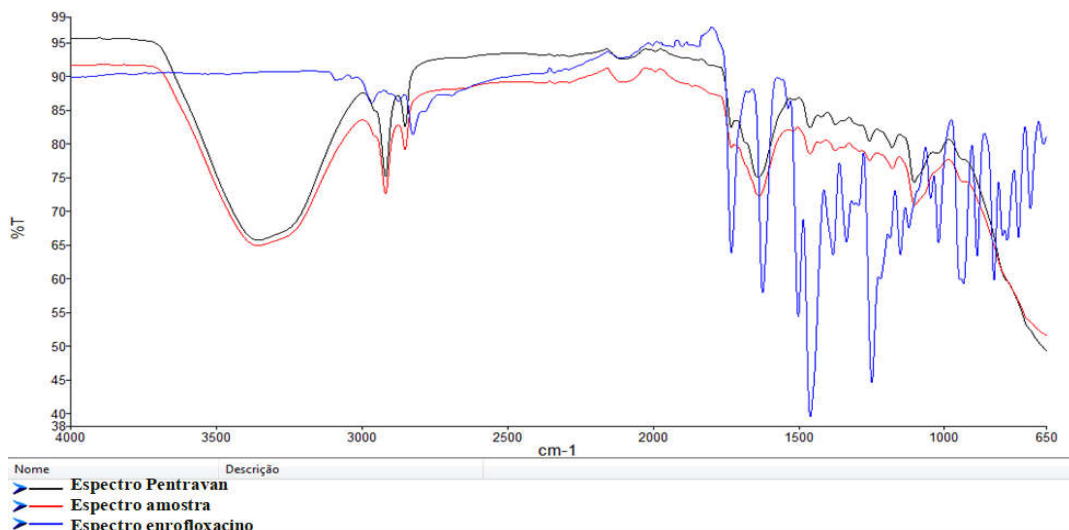


Figura 4: Espectro do enrofloxacin, da base Pentravan[®] e da amostra de enrofloxacin 0,5% em base Pentravan[®]

Por meio dos espectros acima se pode identificar os principais picos referentes ao fármaco, a base Pentravan[®] e à formulação. Não foram observadas diferenças no espectro referente à base Pentravan[®] quando comparado ao espectro da formulação, sendo que os principais picos do enrofloxacino apresentaram-se encobertos.

5.5 DETERMINAÇÃO DO TAMANHO DE PARTÍCULA

Para medir o tamanho e dispersão das partículas foi utilizado o equipamento Mastersizer[®] e as amostras foram caracterizadas no tempo 0 na temperatura de 30°C, conforme tabela abaixo.

Tabela 2: Diâmetro e Span da amostra (Enrofloxacino +Base) e da base Pentravan

	Diâmetro médio (µm)	Span
Amostra	16,295 (± 0,66)	1,215 (± 0,007)
Base Pentravan[®]	0,261 (± 0,007)	1,274 (± 0,028)

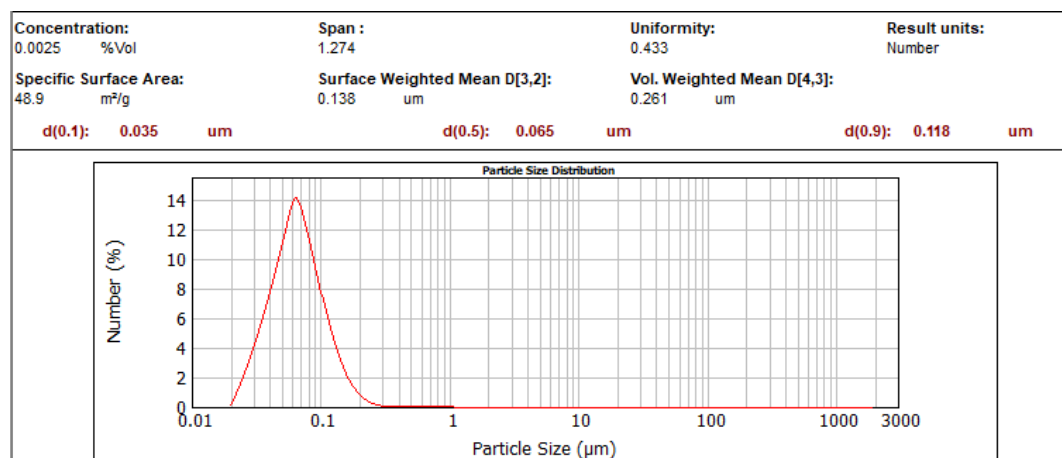


Figura 5: Distribuição do tamanho de partícula para a base Pentravan[®].

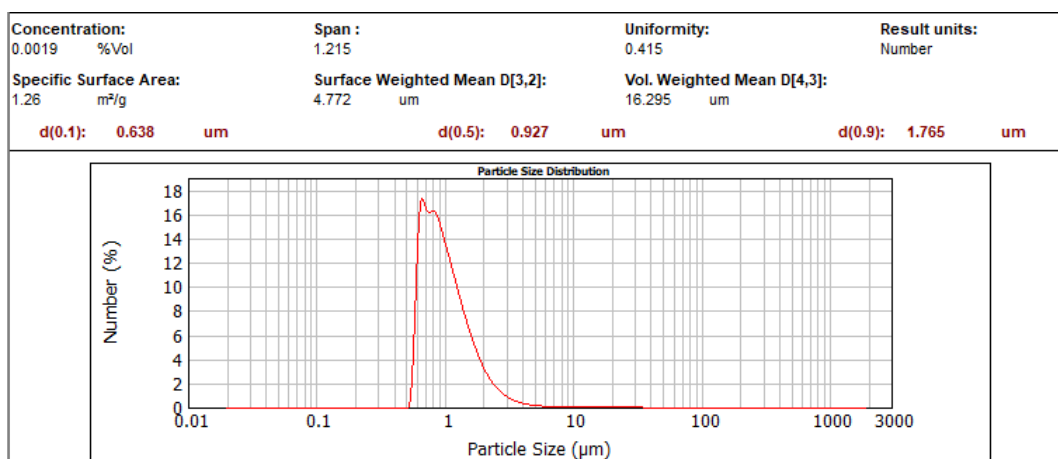


Figura 6: Distribuição do tamanho de partícula para a amostra.

Foi observada uma diferença entre os valores de diâmetro médio entre a base Pentravan[®] e a amostra incorporada do fármaco. Este fato pode estar atribuído a um processo de desestabilização do sistema promovido pelo solvente etoxidiglicol, ou mesmo ao tempo de agitação da formulação.

5.6 PERFIL REOLÓGICO

Na avaliação do perfil reológico foi utilizado um viscosímetro de Brookfield, onde foi definido o *spindle* a ser utilizado bem como a taxa de cisalhamento adequada para traçar o perfil reológico. Tanto a base Pentravan[®] quanto a amostra apresentaram comportamento pseudoplástico com tixotropia, conforme demonstrado na Figura 7.

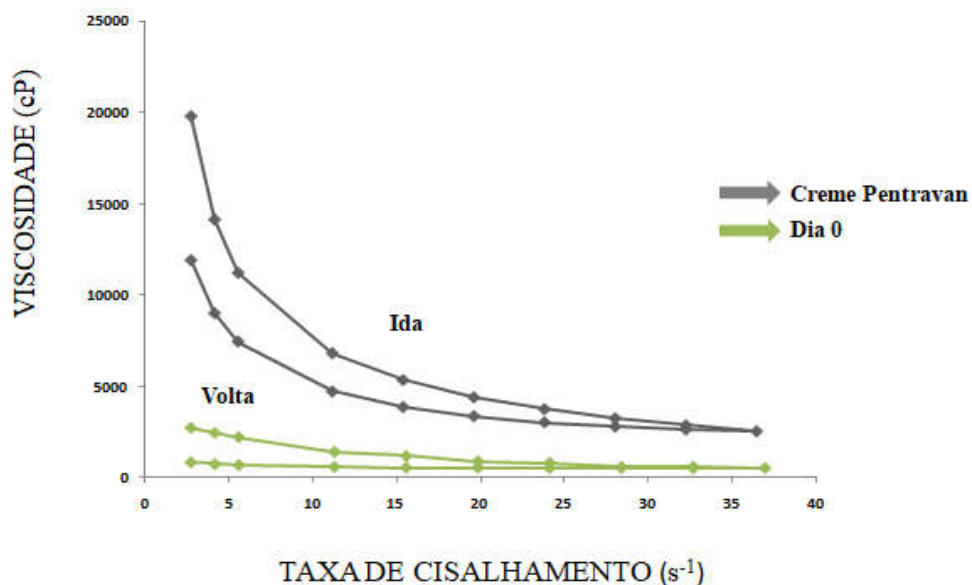


Figura 7: Gráficos da base Pentravan[®] e da amostra com comportamento pseudoplástico e tixotropia

5.7 ANÁLISE MICROSCÓPICA

A amostra foi analisada por microscopia ótica no aumento de 400x, utilizando visualização mediante câmera Olympus[®] SC30, modelo U-V0.63XC. As fotomicrografias foram avaliadas quanto ao formato da fase interna do sistema, presença de microcristais do fármaco, bem como sobre a presença de agregados ou floculados na formulação. Na análise realizada nos tempos 0, 10, 20 e 30 dias, nas temperaturas de 30°C e 45°C não foram observadas a presença de microcristais. As fotomicrografias estão demonstradas na figura 8:

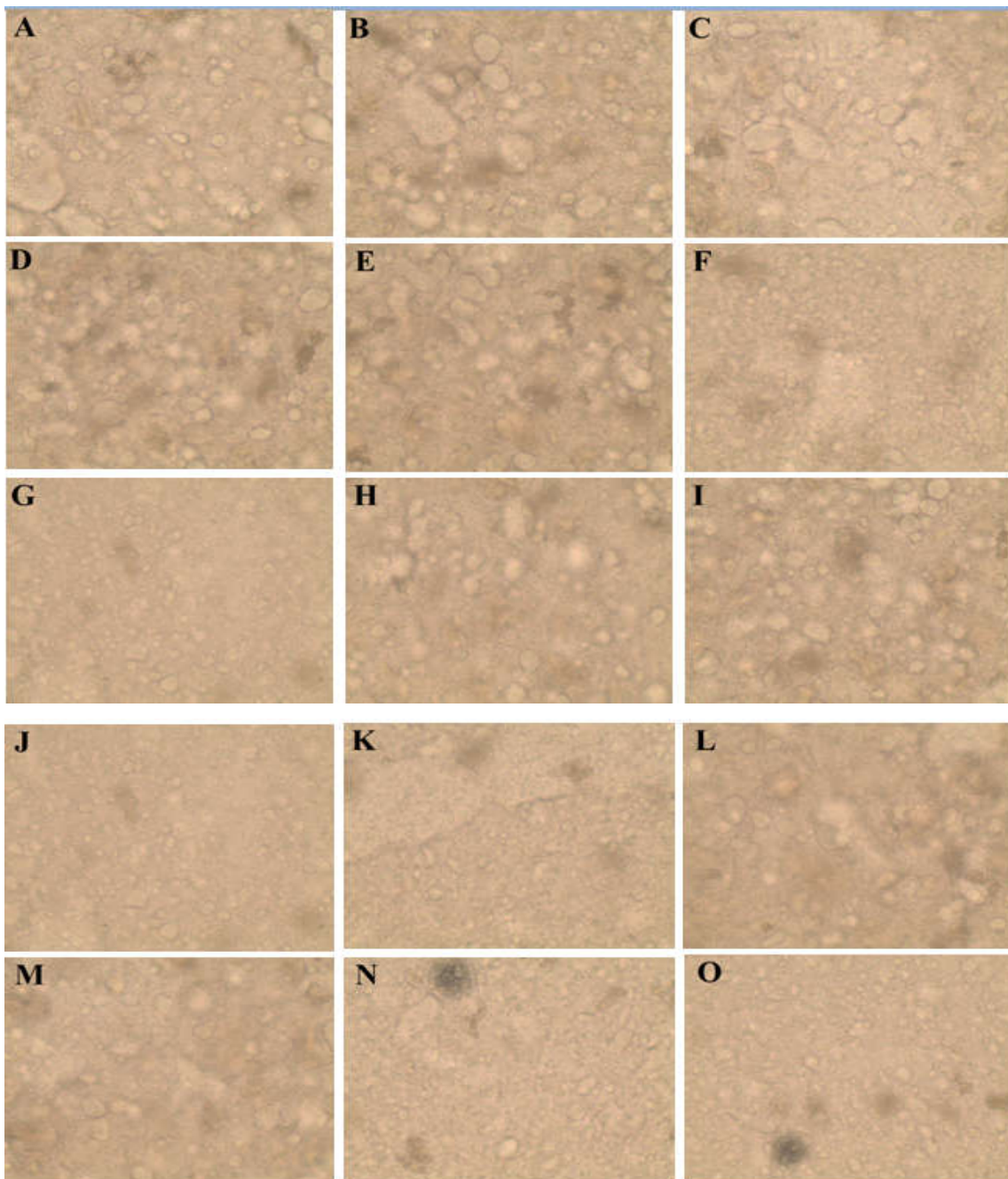


Figura 8: Fotomicrografias da amostra e da base PentraVan onde: A=Base PentraVan, B e C= Amostra no tempo zero, D e E=Amostra no tempo 10 dias e temperatura de 30°C, F e G= Amostra no tempo 10 dias e temperatura de 45°C, H e I = Amostra no tempo 20 dias e temperatura de 30°C, J e K= Amostra no tempo 20 dias e temperatura de 45°C, L e M= Amostra no tempo 30 dias e temperatura de 30°C, N e O= Amostra no tempo 30 dias e temperatura de 45°C

A microscopia ótica foi utilizada neste estudo no sentido de se ter uma ideia do aspecto submicrométrico das estruturas e a influência do tempo e temperatura sobre as mesmas. Por ser uma amostra com características submicrométricas, a resolução das imagens bem como a avaliação dos fenômenos associados estão limitados pela natureza

da técnica e podem não ser conclusivos, porém tem a capacidade de demonstrar efeitos mais expressivos como formação de agregados e a presença de cristais do fármaco.

Comparando as imagens obtidas em relação ao tempo de estudo, foi possível observar agregados maiores para as amostras mantidas a 30°C em relação às aquelas armazenadas a 45°C, conforme descrito na Tabela 3. Não foi observada a presença de cristais do fármaco em nenhuma condição estudada.

Tabela 3: Avaliação microscópica das fotomicrografias.

Fotomicrografias	Temperatura	Dia	Escala
A	-	-	1
B/C	-	0	0
D/E	30°C	10	0
F/G	45°C	10	3
H/I	30°C	20	0
J/K	45°C	20	3
L/M	30°C	30	0
N/O	45°C	30	3

5.8 PERFIL POR CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC)

DSC é uma técnica que mede temperatura e fluxo de calor associados a transições em materiais como uma função do tempo e da temperatura em uma atmosfera controlada. Avalia diferentes mudanças de uma propriedade física de uma substância e/ou de seus produtos de reação em função da temperatura e do tempo.

Conforme observado nas figuras 9 e 10, tanto a amostra quanto a base apresentaram curvas semelhantes e com pico endotérmico característico em 120° C.

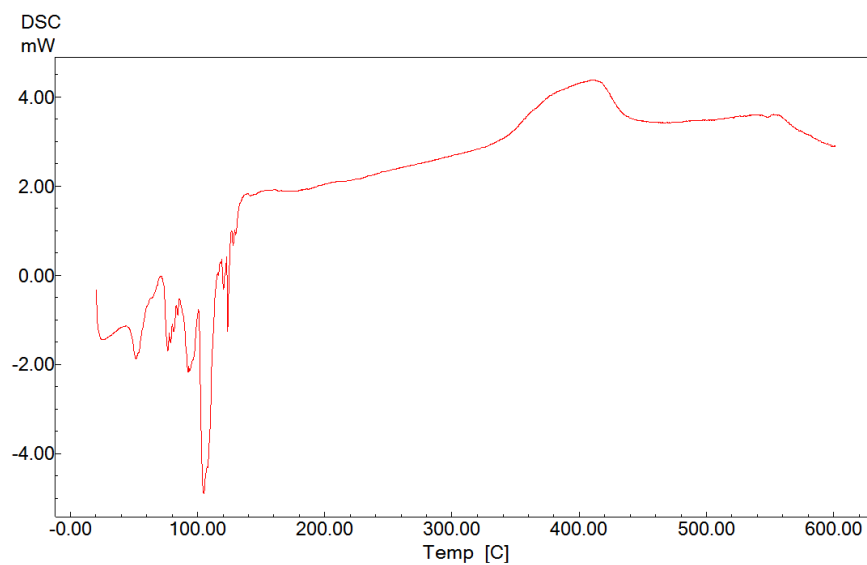


Figura 9: Curva de DSC referente à base Pentavan®.

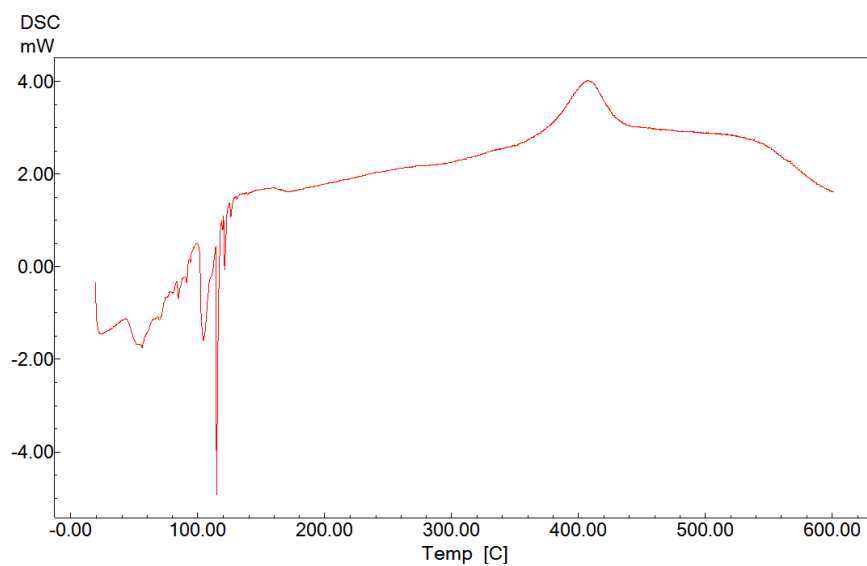


Figura 10: Curva de DSC referente à amostra.

Não foi observado aparecimento/desaparecimento de picos, o que caracteriza a não interação entre os componentes da amostra. Devido à pequena quantidade de fármaco na amostra, o pico de fusão do enrofloxacino segundo a literatura (220°C) se mostrou encoberto.

5.9 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DA FORMULAÇÃO

5.9.1 Perfis reológicos das amostras

Os perfis reológicos das amostras submetidas ao teste de estabilidade no período de 30 dias podem ser observados nas figuras a seguir.

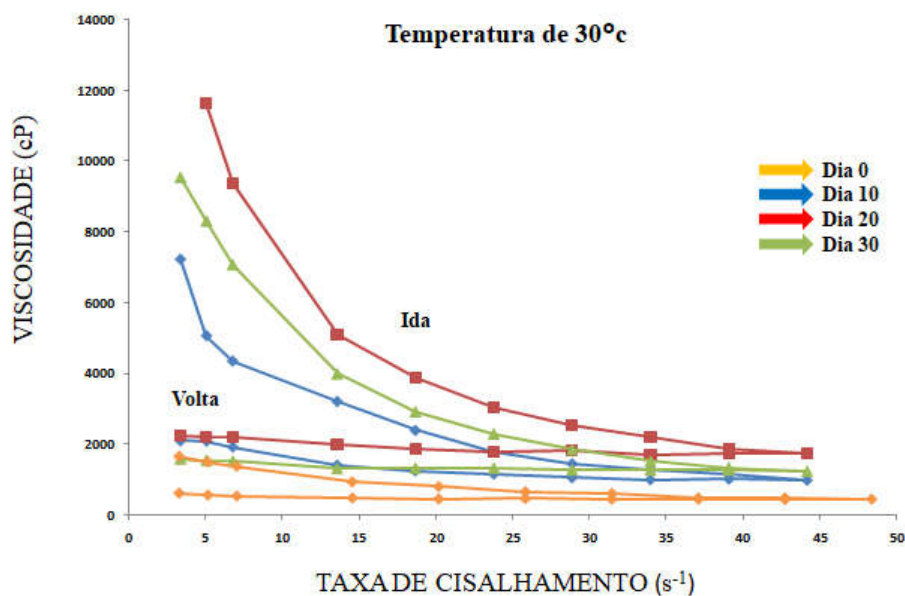


Figura 11: Perfil reológico de amostras armazenadas em 30°C por 30 dias.

Para as amostras armazenadas em temperatura ambiente, no período de 30 dias, não foram observadas alterações em relação ao comportamento pseudoplástico dos dias 0, 10, 20 e 30. Entretanto é possível observar o fenômeno denominado “tixotropia”, o qual se mostrou mais acentuado para as amostras analisadas a partir do 10º dia.

Para as amostras armazenadas a 45°C na estufa, no período de 30 dias, não foram observadas alterações em relação ao comportamento pseudoplástico da formulação, conforme pode ser observado na Figura 12. Entretanto é possível observar novamente o fenômeno denominado “tixotropia”. É importante observar que, para as mesmas taxas de cisalhamento, as amostras armazenadas a 45°C apresentaram viscosidades mais elevadas quando comparadas àquelas armazenadas à 30°C.

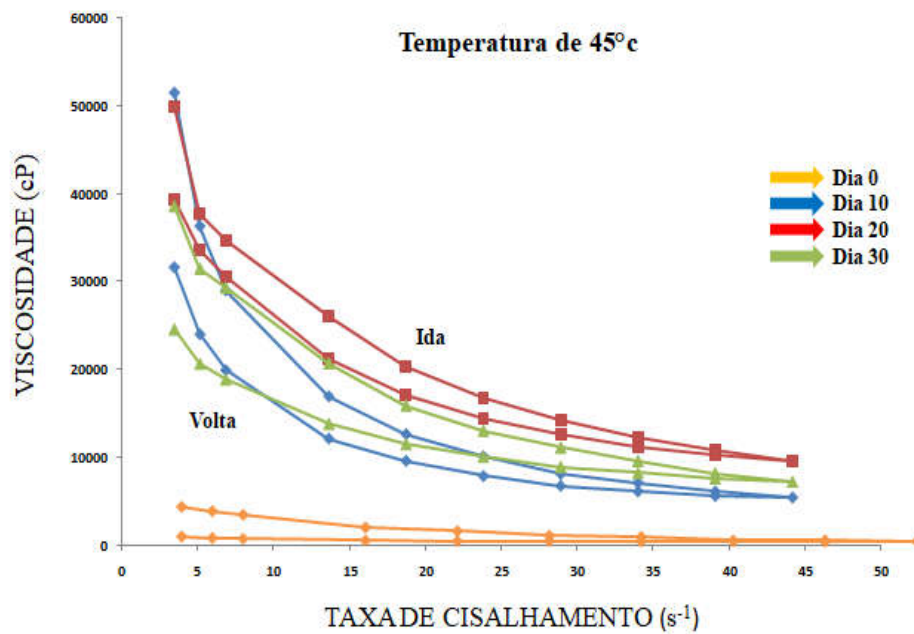


Figura 12: Perfil reológico de amostras armazenadas em estufa a 45°C por 30 dias.

6 CONCLUSÃO

O enrofloxacino é um antimicrobiano amplamente utilizado na prática veterinária e a incorporação do mesmo em uma base transdérmica tem como benefício imediato a administração por uma via mais adequada para animais de pequeno e grande porte. O desenvolvimento farmacotécnico deste medicamento requer uma avaliação da base a ser utilizada bem como da estabilidade da formulação. No presente estudo pode-se concluir que o modo de incorporação bem como o solvente de solubilização do fármaco influenciou nas características da formulação, alterando aspectos importantes como tamanho de partícula e viscosidade. Estudos mais avançados serão necessários para determinar a formulação mais adequada do ponto de vista farmacotécnico associado a métodos de avaliação da permeação do fármaco na pele dos animais.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Como perspectiva futura para este trabalho sugere-se os seguintes testes:

- Realizar estudo de estabilidade em período superior a 30 dias.
- Caracterizar a formulação por Microscopia de Força Atômica e técnicas associadas, no sentido de identificar a estrutura lipossomal e sua estabilidade.
- Desenvolver e validar método indicativo de estabilidade para quantificação do fármaco.
- Avaliar a permeação do fármaco por métodos *in vitro* e *in vivo*.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, KÁTIA; AMARAL, TAMIRIS; LYRA, THALYTA. **Uso potencial do Pentravan para veiculação de Eugenol por via transdérmica** / Pindamonhangaba-SP : FAPI Faculdade de Pindamonhangaba, 2014.

ANSEL HC, ALLEN Jr LV, POPOVICH NG. **Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems**. 7. ed. Maryland: Lippincott Williams & Wilkins; 1999.

ALLEVATO M.A., **Sistemas Terapêuticos Transdérmicos**, Act Terap Dermatol 2007. 30:154.

ALMEIDA, KÁTIA A. P. ALVES D. A., TAMIRIS A., LYRA, THALYTA P. **Uso potencial do Pentravan para veiculação de Eugenol por via transdérmica** / Pindamonhangaba-SP : FAPI Faculdade de Pindamonhangaba, 2014.

APPELBAUM, P.C.; HUNTER, P.A. **The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives**. International Journal of Antimicrobial Agents, v.16, p.5-15, 2000.

BALL K.R., RUBIN J.E., CHIRINO- TREJO M., DOWLING P.M. 2008. **Antimicrobial resistance and prevalence of canine uropathogens at the Western College of Veterinary Medicine Veterinary Teaching Hospital, 2002–2007**. Can Vet J, v. 49, p. 985–90.

BARREIRO, E. J., FRAGA, C. A. M., **Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos**, Editora Artmed, Porto Alegre, 2ª ed., 2008.

BRASIL. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. Diário oficial da República federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF. 2004. p 52.

DENARI, GABRIELA BUENO. **Princípios e aplicação de análise térmica/org**. São

Carlos: IQSC, 40.p, 2012.

DUCROTTÉ, T. ALBAN et al. **Ex-vivo permeation of enrofloxacin through shed skin of Python molurus bivittatus, as evaluated with a Franz cell.** Journal of Drug Delivery Science and Technology, p 89-94, 2016.

DUCROTTÉ, T. ALBAN., KIRILOV, PLAMEN. **Detection of enrofloxacin after single-dose percutaneous administration in python regius, boa constrictor inperator and acrantophis dumerili.** Journal of Exotic Pet Medicine, p 263-269, 2017.

ELMAS M., ÜNEV K., YAZAR E., KARABACAK A., TRAS B. 2007. **Pharmacokinetics of enrofloxacin following intravenous and intramuscular administration in Angora rabbits.** Res. Vet. Sci. 82(2), 242-245.

FAGRON, PENTRAVAN. **Evidência científica inédita para permeação transdérmica de hormônios.** Disponível em: <http://www.fagron.com.br>

FAGRON, PENTRAVAN. **Material técnico do fornecedor.** Disponível em: Disponível em: <http://www.fagron.com.br>

FORESTI, GABRIELA R. FORESTI/ **Enrofloxacino: Desenvolvimento De Métodos Analíticos E Perfil De Dissolução Baseado Em Dados IN Vivo/Dissertação(Mestrado) Universidade Federal do Pampa, 2015.**

GATORIA I.S., SAINI N.S., RAI T.S., DWIYDI P.N. 2006. **Comparison of three techniques for the diagnosis of urinary tract infections in dogs with urolithiasis.** J Small Anim Pract, v. 47, p.727-32.

GILMAR A. G., HARDMAN J. G., LIMBIRD L. E. **As bases farmacológicas da terapêutica.** 10a edição. Rio de Janeiro: Editora Mc Graw Hill;2004.Farmacologia dermatológica;1350-1351.

KIRILOV, PLAMEN et al. **Ex-vivo percutaneous absorption of enrofloxacin: Comparison of LMOG organogel vs. pentravan cream.** International Journal of

Pharmaceutics, p 170-177, 2015.

KOGAN A, GARTI N. **Microemulsions as transdermal drug delivery vehicles**. Adv Colloid Interface Sci. 2006; 123(126): 369–85.

KORHONEN, MIRKA et al. **Rheological of creams with four different surfactant combinations – effect of storage time and conditions**. International Journal of Pharmaceutics, v.221, n.1-2, p. 187-196, jun. 2001.

MACHADO, FERRARINI FELIPE. **aplicação de aquecimento com radiação microondas como substituto ao aquecimento convencional em testes de degradação forçada de emulsão farmacêutica**. Uruguaiana-rs, 2013.

MARTINEZ, M. MCDERMOTT., P. WALKER. **Pharmacology of the fluoroquinolones: A perspective for the use in domestic animals**. The Veterinary Journal, London, v. 172, p. 10–28, 2006.

PRAUSNITZ MR, MITRAGOTRI S, LANGE R. **Current status and future potential of transdermal drug delivery**. Nat Rev Drug Discov. 2004; 3(2): 115-24.

PRAUSNITZ MR, LANGE R. **Transdermal drug delivery**. Nat Biotechnol. 2008; 26(11):1261-8.

PRISTA L. N., et al. (2008). **Administração de Medicamentos**. In: Prista, L. N. (Ed.). Tecnologia Farmacêutica I Volume. 7ª Edição. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, pp. 63-99.

RANG, H. P., DALE, M. M., RITTER, J. M., **Farmacologia**, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2004.

ROCKVILLE MD. **Approved drug products with therapeutic equivalence evaluations**. 27. ed. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research; 2007.

SCHUELLER, R., ROMANOWSKI P. **Emulsões. Cosm. Toil.** v.12, n.3, p.71-74, 2000.

SILVA, E. C., SOARES I. C. **Tecnologia de emulsões. Cosm. Toil.**, v.8, n.5, p.37-46, 1996.

SOUSA, I.C. **Interação da Enrofloxacina com modelos biomembranares: influência das suas propriedades físicoquímicas.** 2007. Dissertação (Mestrado em Tecnologia, Ciência e Segurança Alimentar) - Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Lisboa, Portugal, 2007.

SOUZA, M. J., BITTENCOURT C.F., MORSCH L.M., 2006. **LC determination of enrofloxacin.** J. Pharm. Biomed. Anal. 28(6), 1195-1199.

TADROS, T. **Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions.** Adv. Colloid Interface Sci., v. 108/109, 227-258, 2004.

TURIEL, E., BORDIN G., RODRÍGUEZ A. R. **Trace enrichment of fluoroquinolone antibiotics in surface waters by solid-phase extraction and their determination by liquid chromatography-ultraviolet detection.** J Chromatogr A., v. 8, p. 145-55, 2003.

VIANNA, D. R., SILVA B. V., HAMERSKI L. (2010). **Electroporation and iontophoretic for drug delivery across the skin.** Revista Virtual de Química, 2(4), pp. 271-279.

VICH GL1. **International Cooperation on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medicinal Products.** Validation of Analytical Procedures: Definition and Terminology. London, 2006. 22p.

WEBSTER, C. R. L. **Farmacologia Clínica em Medicina Veterinária.** São Paulo: E.D; Roca, 2005 p. 22-23.

WESTROPP J.L., SYKE J.E., IROM S., DANIELS J.B., SMITH A., KEIL D., STTIE T., WANG Y., CHEW D.J. 2012. **Evaluation of the Efficacy and Safety of High Dose Short Duration Enrofloxacin Treatment Regimen for Uncomplicated Urinary Tract Infections in Dogs.** Vet Intern Med, v. 26, p.506–12.