

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA
"ANÁLISE, SÍNTESE E CONTROLE DE MEDICAMENTOS"

CEFALEXINA MONOIDRATADA EM SUSPENSÃO ORAL.
PROPOSIÇÃO TECNOLÓGICA, BIODISPONIBILIDADE
E ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA.

Dissertação apresentada por
ANSELMO GOMES DE OLIVEIRA
para obtenção do Grau Aca
dêmico de MESTRE EM FAR
MÁCIA.

ORIENTADOR: PROFESSOR DOUTOR PEDRO ROS PETROVICK

PORTO ALEGRE
1983

OBJETIVO

O presente trabalho objetiva o desenvolvimento de uma formulação racional e justificável, bem como o estudo de uma tecnologia adequada para a preparação da Cefalexina monoidratada em Suspensão oral.

Objetiva, ainda, a avaliação da biodisponibilidade, toxicidade, estabilidade físico-química e determinação do tempo de vida útil do princípio ativo na forma farmacêutica proposta.

ÍNDICE

INTRODUÇÃO	02
PARTE EXPERIMENTAL	12
Caracterização da matéria prima	12
Testes de identificação	12
Determinação do teor de umidade.....	12
Análise granulométrica	12
Espectrofotometria de ultra-violeta	12
Ensaio microbiológico	13
Constantes físicas do meio dispersante	17
Desenvolvimento da forma farmacêutica	18
Método de extração do antibiótico	18
Teste de incompatibilidades	19
Floculação controlada e cinética de sedimentação	19
Proposição da forma farmacêutica final	20
Preparação da forma farmacêutica	20
Constantes físico-químicas da suspensão	21
Degradação fotoquímica acelerada	22
Degradação térmica acelerada	22
Teste de dissolução " <i>in vitro</i> "	23
Disponibilidade biológica	23
Toxicidade	24
Drogas, Fármacos e Reagentes	24
RESULTADOS	25
Testes de Identificação	25
Determinação do teor de umidade	25
Análise granulométrica	25
Espectrofotometria de ultra-violeta	26
Curva padrão de absorção no U.V.	27
Ensaio microbiológico	27
Constantes físicas do meio dispersante	28
Método de extração do antibiótico	28
Verificação cromatográfica da extração	29
Teste de incompatibilidades	31
Floculação controlada e cinética de sedimentação	32
Fotomicrografias do sedimento das suspensões	33
Preparação da forma-farmacêutica	35

Degradação fotoquímica acelerada	35
Degradação térmica acelerada	37
Cálculo das constantes de velocidade de decomposição ...	41
Determinação do tempo de vida útil da preparação	42
Variações do pH	46
Variações da viscosidade	46
Teste de dissolução " <i>in vitro</i> "	47
Disponibilidade biológica	49
Toxicidade	50
DISCUSSÃO	51
CONCLUSÕES	65
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
AGRADECIMENTOS	77

SINOPSE

Desenvolveu-se uma formulação própria para a Cefalexina monoidratada em Suspensão oral.

O estudo realizou-se em duas etapas. A primeira ocupou-se com o estudo de pré-formulações, no que diz respeito às incompatibilidades químicas e estabilidade física, com a finalidade da otimização de uma formulação definitiva. A segunda envolveu o controle físico-químico e biológico da formulação proposta, com o objetivo da confirmação dos parâmetros tecnológicos.

INTRODUÇÃO

Os antibióticos beta-lactâmicos constituem um dos importantes grupos de medicamentos empregados na terapêutica antibacteriana incluindo as penicilinas, cefalosporinas e cefamicinas. As penicilinas e cefalosporinas diferem primariamente pelo fato que as primeiras derivam do ácido 6-amino-penicilânico (6-APA), enquanto que as cefalosporinas derivam do ácido 7-amino-cefalosporânico (7-ACA). O núcleo 7-ACA relaciona-se com a Cefalosporina C, sendo as cefamicinas também relacionadas quimicamente com a Cefalosporina C (5).

A história das cefalosporinas iniciou-se em julho de 1945, quando o Professor Giuseppe Brotzu, da Universidade de Cagliari, descobriu, nas águas do mar Mediterrâneo, na Costa da Sardenha, próximo à desembocadura de esgotos, o fungo *Cephalosporium*. Dois anos após, no Congresso Farmacêutico em Milão, ele relatou que o microrganismo, mais tarde identificado como *Cephalosporium acremonium*, elaborava substâncias com ação antimicrobiana (1, 104).

Em 1948, os experimentos do Prof. Brotzu atraíram a atenção do Prof. Sir Howard Florey. Pesquisas realizadas na Universidade de Oxford e, posteriormente, nos laboratórios de Pesquisa de Antibióticos em Clevedon, revelaram que os produtos de fermentação do fungo continham a Cefalosporina N que, na realidade, é uma penicilina de núcleo 6-APA, com cadeia lateral derivada do ácido D- α -aminoadípico (1, 8, 19).

A continuidade dos estudos levou ao isolamento da Cefalosporina P, um antibiótico de estrutura esteroidal, relacionado quimicamente com os ácidos fuccídico e helvólico (1, 3, 19).

As preparações, parcialmente purificadas, de Cefalosporina N, descobertas por NEWTON & ABRAHAM (77), continham uma

substância contaminante, de estrutura química semelhante, que foi denominada de Cefalosporina C. Coube a esses mesmos pesquisadores o isolamento da Cefalosporina C, na forma de sal sódico cristalino (78).

Esse produto é o mais importante dos compostos isolados com atividade antimicrobiana, diferindo da Cefalosporina N por apresentar o núcleo do 7-ACA e, mais importante, é resistente à penicilinase (104).

A química da Cefalosporina C foi elucidada por Abraham e Newton, cujos trabalhos foram de grande ajuda na área das cefalosporinas semi-sintéticas (50).

O primeiro processo de síntese química integral dessa cefalosporina, foi desenvolvido por Woodward e colaboradores, em 1966, mas não foi industrialmente viável (59).

A Cefalosporina C é produzida pelo *Cephalosporium sp.* e sua principal importância reside nas cefalosporinas semi-sintéticas que dela podem resultar (3).

O núcleo da molécula, ácido 7-aminocefalosporânico, pode ser produzido por processos enzimáticos ou químicos a partir da Cefalosporina C. Apesar do grupo D- α -aminoadípico poder ser removido da molécula por hidrólise ácida, o rendimento do produto desejado é muito baixo (62).

Para a produção de novas cefalosporinas, em escala industrial, foi necessário desenvolver um método, economicamente viável, para a produção do 7-ACA. Os Laboratórios de Pesquisa Lilly resolveram o problema utilizando um método (figura 1), no qual a Cefalosporina C é tratada com cloreto de nitrosila em ácido fórmico, formando um intermediário iminolactona, que é hidrolisado em água, fornecendo o 7-ACA (72).

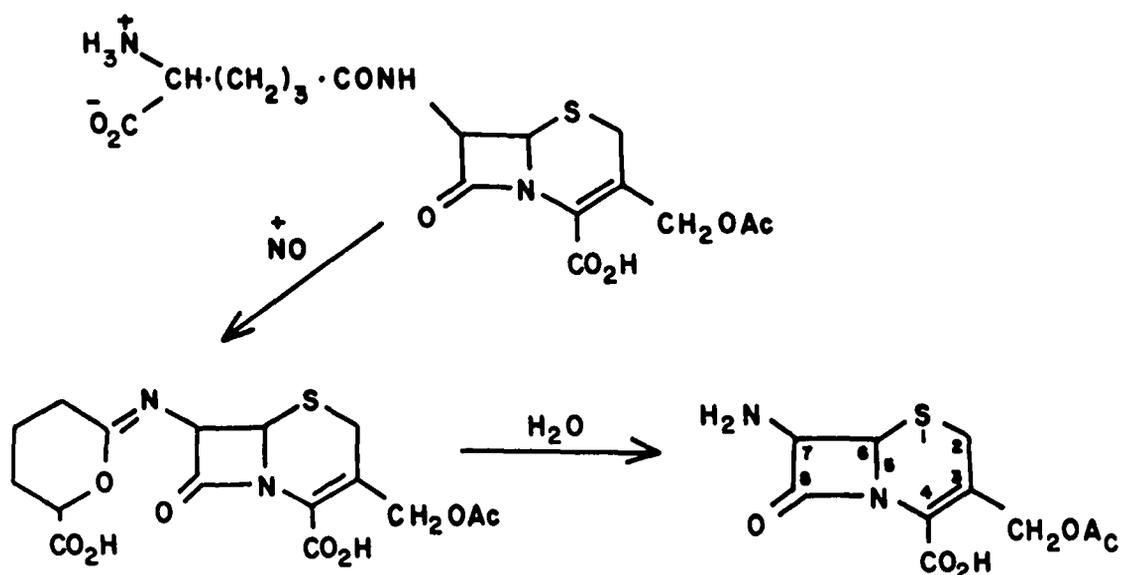


Figura 1 - Esquema da síntese do 7-ACA, a partir da Cefalosporina C.

A partir daí, outros métodos foram desenvolvidos e estudados por várias firmas farmacêuticas.

As possibilidades favoráveis de modificação na molécula apareceram com a descoberta de que o grupo O-acetil da Cefalosporina C podia ser removido por hidrólise, com uma acetil-esterase (53), e que o grupo acetoxi podia ser removido por hidrogenólise, fornecendo a Desacetoxicefalosporina C (2).

Dessa forma, pôde-se preparar a série das Desacetil-, bem como das Desacetoxicefalosporinas, sendo um dos compostos enquadrados nesse último grupo o antibiótico objeto de nosso estudo.

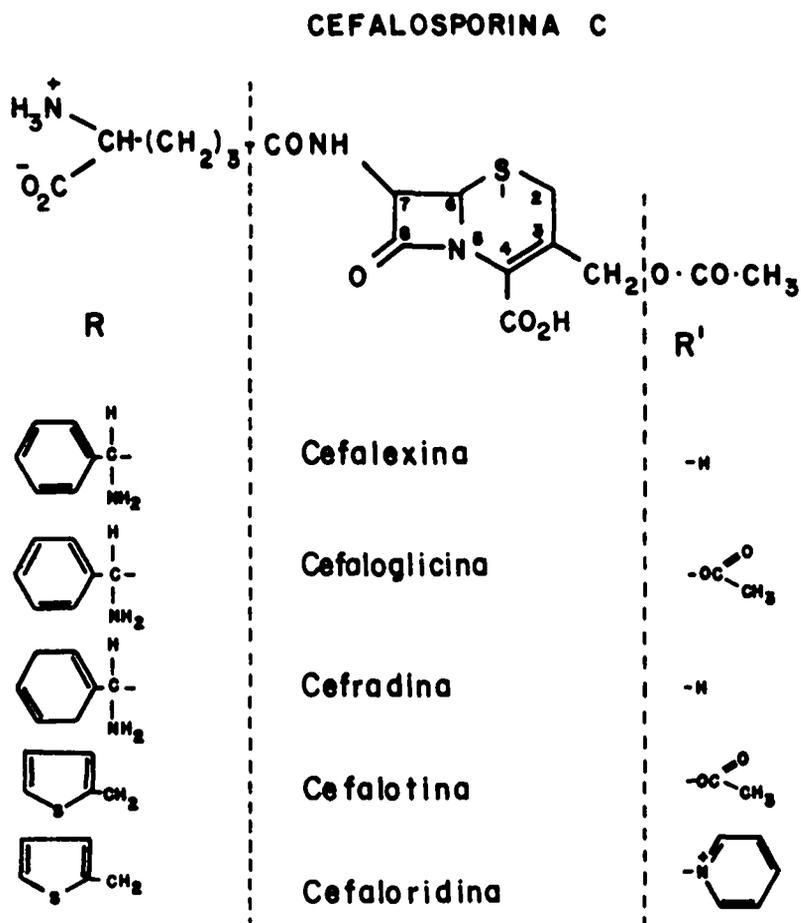


Figura 2 - Fórmula estrutural de algumas Cefalosporinas semi-sintéticas.

As cefalosporinas possuem uma estrutura β -lactamadiidrotiazínica, isto é, contém um anel β -lactâmico, essencial para a atividade antibiótica, condensado a um anel diidrotiazínico (fig. 1). Essa estrutura contém dois centros assimétricos, existindo, portanto, quatro formas opticamente ativas. No isômero natural os anéis condensados estão dobrados ao longo da ligação C-6, N-5, e o átomo de carbono C-7, ligado à amida, apresenta configuração L.

A Cefalexina (fig. 3) corresponde quimicamente ao ácido (6R-7R)-7-[(R)-2-amino-2-fenilacetamido]-3-metil-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxílico monohidrato (102). Pode ser preparada a partir do antibiótico natural, Cefalosporina C, por acilação com D-fenilglicina num meio desidratante

apropriado (88). RYAN e col. (90), descrevem sua síntese e de alguns análogos derivados da D-fenilglicina.



Figura 3 - Fórmula espacial da Cefalexina.

PFEIFFER e col. (83), estudaram a natureza do pseudopolimorfismo da Cefalexina e sua interconversão na forma de hidrato.

A Cefalexina é utilizada em terapêutica na forma de monodrato (45, 102), apresentando-se como um pó cristalino de cor branca a levemente amarelada, fracamente higroscópico e odor característico. Solúvel em 100 partes de água, 30 partes de ácido clorídrico 0,2%; muito pouco solúvel em dioxano, dimetilacetamida e dimetilformamida; praticamente insolúvel em álcool, acetona, clorofórmio e éter (11, 31, 65, 88).

A administração oral é altamente efetiva, proporcionando absorção de aproximadamente 90% da dose (25, 46). A combinação da cadeia fenilglicina com o grupo 3-metil, na cefalosporina, promove esta eficiente absorção oral (90).

Embora, numa monografia (5), tenha sido citado que a presença de alimentos no estômago não interfere com a absorção do antibiótico, GRIFFITH & BLACK (46) verificaram que a ingestão da Cefalexina com alimentos diminui apreciavelmente o nível sérico.

Ligações com proteínas plasmáticas ocorrem na ordem de 10-15% (26), quantidade esta considerada mínima por outros autores.

A Cefalexina não é metabolizada, sendo excretada inalterada via renal (46). SULLIVAM e col. (96) também concluíram o mesmo estudando o metabolismo da Cefalexina-¹⁴C em camundongos e ratos.

O produto é um antibiótico de amplo espectro (9), sendo altamente eficaz nas patologias causadas por uma série de microrganismos gram positivos e gram negativos (65), tais como, estreptococos, estafilococos penicilino sensíveis ou resistentes à penicilina G, *N.meningitidis*, *N.gonorrhoeae* (44, 104). É ativa, também, contra muitos microrganismos encontrados em infecções do trato urinário, entre outros, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Enterobacter sp*. e *Proteus mirabilis* (80, 103).

Estudos farmacocinéticos, mostram intensidades de picos de absorção variáveis, devido a fatores individuais, mas há concordância em que a concentração sérica máxima é alcançada em torno de 1 hora (15, 16, 32, 33, 46, 94).

Na urina, a mais alta concentração é verificada em 3 a 4 horas após a administração (36, 46, 81).

O mecanismo pelo qual a Cefalexina atua é o mesmo dos outros antibióticos beta-lactâmicos, ou seja, age inibindo a síntese da parede celular bacteriana. O processo é explicado baseando-se no fato de que a transpeptidase cataliza o último passo da síntese da parede celular bacteriana, que consiste numa reação de ligação cruzada entre duas unidades glicopeptídicas nascentes. A semelhança estrutural desses antibióticos com o grupo terminal D-alanil-D-alanina da porção pentapéptica desses glicopeptídeos nascentes, proporciona a ligação da enzima aos antibióticos por ligação covalente, impedindo a formação da parede celular bacteriana (59, 74).

FINLAND (34) faz uma análise objetiva a respeito da Cefalexina, demonstrando, em comparação com outros agentes, quais

as indicações e limitações de seu emprego na terapia antibacteriana.

O trabalho de SPEIGHT e col. (95) apresenta uma revisão detalhada e completa sobre as propriedades antibacterianas, farmacológicas e terapêuticas do antibiótico em questão.

A Cefalexina apresenta a vantagem de poder contornar a administração parenteral das outras cefalosporinas. É um antibiótico vantajoso pelas suas propriedades farmacocinéticas favoráveis, possuindo um espectro de ação relativamente amplo e livre de efeitos tóxicos sérios (34). As reações adversas incluem náuseas, vômitos, diarreia e desconforto abdominal, menos frequente que nas outras cefalosporinas. Rachaduras na pele e um discreto aumento no nível das transaminases séricas foram observados. Neutropenia e eosinofilia podem ocorrer em alguns pacientes. Casos de superinfecção com microrganismos resistentes, particularmente *Candida*, podem ocorrer durante o tratamento. Fenômenos de hipersensibilidade são raros, traduzindo-se em pruridos genital e anal, urticária, angioedema ou reações anafiláticas. A sensibilidade cruzada com as penicilinas também foi observada (5, 65, 88).

Uma formulação correta compreende o estabelecimento qualitativo e quantitativo do agente terapêutico e adjuvantes da fórmula, de tal modo que o princípio ativo conserve por maior tempo possível suas propriedades iniciais.

Desse modo, a natureza do veículo empregado influencia diretamente na estabilidade físico-química das suspensões de Cefalexina. Outro fator pertinente à formulação é a possibilidade de incompatibilidade direta da Cefalexina com outros componentes da forma farmacêutica.

A Cefalexina, como outros antibióticos beta-lactâmicos, é marcantemente instável em soluções ou suspensões aquosas (50,

52, 65, 105), apresentando, entretanto, um ótimo de estabilidade a pH 4,5 (65).

YAMANA & TSUJI (105) observaram que em soluções aquosas a pH 1, a Cefalexina e Cefradina são cerca de 25 vezes mais estáveis que a Cefaloridina, Cefalotina e Cefaloglicina e, cerca de 180 vezes mais estáveis que a Ampicilina. Os autores estudaram, ainda, a cinética e mecanismos de degradação das cefalosporinas em condições ácidas, neutras e alcalinas.

BUNDGAARD (12) verificou que os produtos de decomposição da Cefalexina, em soluções aquosas neutras, são resultantes da abertura do anel beta-lactâmico por aminólise intramolecular entre o grupo amínico, situado no C-7, e o grupo carbonila do anel beta-lactâmico.

O trabalho de YASUAHARA e col. (106) demonstra o feito catalítico de micelas catiônicas na degradação da Cefalexina, o que foi explicado em termos de interação entre o antibiótico e as micelas.

PRIETO & SALTO (85) estudaram o efeito do tampão TRIS sobre a degradação de algumas Desacetoxicefalosporinas, verificando que a forma protonizada do tampão praticamente não exerce ação catalítica sobre a Cefalexina ionizada, havendo uma fraca catálise sobre sua forma dipolar.

A estabilidade do antibiótico, em cápsulas, foi estudada por CONINE e col. (18), concluindo que a 5°C, 25°C e 40°C, assim como a 40°C com umidade relativa de 75%, a degradação era insignificante durante 6 meses de estocagem.

A precária estabilidade dos xaropes reconstituídos foi comprovada pelos estudos de INOUE e col (52) e BOND e col(9).

Outros fatores, como a presença de íons metálicos, certos ânions, oxidantes, redutores, álcoois e aminas primárias, podem provocar a ruptura do anel beta-lactâmico (100).

Importante, ainda, no processo de inativação das cefalosporinas é a ação das enzimas bacterianas, principalmente as beta-lactamases, que hidrolizam as ligações do anel beta-lactâmico produzindo derivados do ácido cefalosporóico, antibioticamente inativos; as acilases, que hidrolizam a cadeia N-acil; e as acetilesterases, de menor importância, que atacam seletivamente o grupo acetilester do carbono 3 produzindo Desacetilcefalosporinas (50).

Além dos fatores relativos ao próprio fármaco, outros motivos que justificam o emprego das formas farmacêuticas líquidas de uso oral são, principalmente, sua utilização em pediatria e geriatria, devido à dificuldade da administração das formas farmacêuticas sólidas ou a manutenção da terapia com injetáveis.

As suspensões, particularmente consideradas, são adequadas a essas aplicações devendo-se, entretanto, considerar como fator decisivo à viabilidade tecnológica e econômica da formulação, sua estabilidade físico-química, bem como suas propriedades farmacocinéticas.

Uma das maneiras de assegurar a estabilidade física das suspensões é evitar a formação de sedimentos compactos, de difícil redispersão, através da utilização de agentes flocculantes (13, 27, 28, 64, 68, 75). Nesse tipo de sistema ocorre sedimentação em conjunto, dando origem a flocos cujas partículas encontram-se ligadas frouxamente (14).

Entre os flocculantes de uso corrente, os agentes tensioativos, principalmente os iônicos, encontram grande aplicação (7, 10, 49, 57, 89).

A granulometria da fase dispersa é outro aspecto importante, pois além de influenciar na estabilidade física da suspensão (7), condiciona, em parte, a atividade farmacológica do medicamento (101).

Não menos significativo é a estabilidade química da preparação que, evidentemente, depende da natureza do meio dispersante e dos adjuvantes da formulação e que, em última instância, pode ser avaliada através do comportamento térmico e fotoquímico da forma farmacêutica.

A esse respeito GARRET (37, 38, 39, 40, 41, 42) foi o pioneiro na utilização dos processos de degradação acelerada, na predição do tempo de vida útil de medicamentos. A partir de então, a metodologia foi amplamente empregada por vários pesquisadores (71, 86, 93).

TINGSTAD & SHAMI (98) desenvolveram um método simplificado para a determinação da estabilidade química de fármacos em suspensões farmacêuticas.

Por outro lado, AMIRJAHED (6) utilizou um método gráfico simples e de fácil execução para a determinação do prazo de validade de medicamentos.

O estudo da cinética de dissolução "*in vitro*" é um método aplicável para a definição dos parâmetros tecnológicos da forma farmacêutica (58), pois a etapa liberação/dissolução pode ser a determinante no processo de absorção "*in vivo*" (84).

Num contexto geral, a forma farmacêutica final implica num conjunto de fatores técnicos e práticos de alta significância nos resultados finais.

Essas informações contribuíram relevantemente na concretização do objetivo deste trabalho, que, em síntese, é o da obtenção de uma forma farmacêutica de fácil administração, estável sob o aspecto físico-químico, com características farmacocinéticas adequadas e que não apresente toxicidade significativa ao organismo.

PARTE EXPERIMENTAL

CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA PRIMA:

TESTES DE IDENTIFICAÇÃO

A matéria prima empregada, Cefalexina monoidratada, foi submetida aos testes de identificação indicados na Farmacopéia Brasileira (31) e Farmacopéia Britânica (11). Foi, ainda, traçado o espectro de absorção no ultra-violeta, o qual foi analisado comparativamente com o da Cefalexina monoidratada padrão.

DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE

Foi realizada em aparelho Mettler LP 11, acoplado a uma balança analítica digital Mettler PL 100, através da metodologia usual. Os resultados foram expressos percentualmente.

ANÁLISE GRANULOMÉTRICA

A determinação foi realizada por microscopia, em Microscópio Jena, cuja calibração correspondeu a 3,45 μ m por divisão. Foram analisados 3 campos, procedendo-se a contagem de, no mínimo, duzentas partículas por campo. Os resultados foram expressos percentualmente em função dos intervalos de diâmetros.

DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DA CEFALEXINA MONOIDRATADA

Espectrofotometria de ultra-violeta

a) Preparação da solução padrão

Pesaram-se exatamente 50 mg de Cefalexina monoidratada padrão. Foram transferidas para um balão volumétrico de 50 ml de capacidade, adicionou-se 30 ml de água destilada. Agitou-se até solubilização e completou-se o volume com água destilada. Em seguida, transferiu-se uma alíquota de 2 ml para balão volu

métrico de 100 ml de capacidade e completou-se o volume com água destilada, de modo a obter concentração final de 20 µg/ml.

b) Preparação da amostra

Preparou-se de maneira análoga à da solução padrão, de modo a obter concentração final teórica de 20 µg/ml.

c) Ensaio do Padrão e da Amostra

As absorvâncias das soluções do padrão e da amostra foram determinadas em espectrofotômetro ultravioleta-visível Varian Techtron mod. 634 S a 262 nm, usando como branco água destilada, em cubetas de 1,00 cm de espessura.

d) Obtenção dos resultados

A concentração percentual da Cefalexina monoidratada foi calculada a partir da média aritmética de três ensaios, através da expressão abaixo:

$$C\% = \frac{\text{Abs.A}}{\text{Abs.Pa}} \times \frac{\text{P.Pa}}{\text{PA}} \times \frac{\text{Pot.Pa}}{(100-m)} \times 10$$

Abs.A - absorvância da amostra

Abs.Pa - absorvância do padrão

P.Pa - peso do padrão (mg)

PA - peso da amostra (mg)

Pot.Pa - potência do padrão (µg/mg)

m - percentual de umidade na amostra

e) Curva Padrão de Absorção

Partindo-se da quantidade já indicada para a preparação da solução padrão, obteve-se uma solução de 1mg/ml. Em seguida, diluiu-se convenientemente de modo a obter-se concentrações finais de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 µg/ml.

A leitura das respectivas absorvâncias foi realizada a 262 nm, em cubeta de 1,00 cm de espessura.

Traçou-se um gráfico, relacionando as absorbâncias obtidas, com as respectivas concentrações. Utilizou-se o método dos mínimos quadrados para o cálculo da equação da reta. O resultado corresponde à média aritmética de 3 determinações.

Ensaio microbiológico

A potência antibiótica da matéria prima foi determinada pelo método microbiológico dos cilindros em placa, adaptado de GROVE & RANDALL (48).

a) Preparação das soluções do padrão

Pesaram-se exatamente 50 mg de Cefalexina monoidratada padrão. Foram transferidas para balão volumétrico do 50 ml, adicionou-se 30 ml de água destilada, agitou-se até solubilização e completou-se o volume com água destilada. Em seguida, transferiu-se alíquotas de 1, 2 e 4 ml para balões volumétricos de 100 ml, completou-se o volume com tampão fosfato de potássio pH 6 estéril (102), obtendo-se concentrações finais de 10, 20 e 40 µg/ml, respectivamente.

b) Preparação da amostra

Preparou-se de maneira análoga à da solução do padrão, de modo a obter concentrações finais teóricas de 10, 20 e 40 µg/ml.

c) Preparação dos meios de cultura

Meios de cultura n^os 1, 2 e 3, segundo GROVE & RANDALL (48), foram dispersos em água destilada, com auxílio de Banho-maria a 100°C, nas proporções indicadas pelo fabricante e esterilizados em autoclave FABBE Mod. 103, a 121°C, por 15 minutos.

d) Preparação dos cilindros

Cilindros de aço inoxidável, com 10 mm de altura, 8 mm de diâmetro externo e 6 mm de diâmetro interno, foram lavados e secos. A seguir, embalados em placas de Petri, foram esterilizados a 180°C, por 2 horas, em estufa termostaticada Lufasco mod. 41181.

e) Preparação do Inóculo

O microrganismo *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), foi inoculado em tubo inclinado contendo 4 ml do meio nº 1, deixando-se desenvolver durante 5 dias a 32-35°C em estufa microbiológica Heraeus tipo B 5042, repicado para outro tubo contendo 4 ml do meio nº 3 e mantido à mesma temperatura durante 24 horas.

Após esse tempo e imediatamente antes do ensaio, a cultura foi diluída a 2% (v/v) com meio nº 2 mantido à temperatura aproximada de 46°C.

f) Preparação das placas

Vinte e quatro placas de Petri, com 20 mm de altura e 10 cm de diâmetro, lavadas e esterilizadas, foram abertas e distribuídas em câmara de fluxo laminar - BSH. Essas placas receberam, como camada base, 20 ml do meio nº 2 liquefeito por aquecimento. Após solidificação foram adicionados, em cada placa, 4 ml do inóculo liquefeito a 46°C e deixado solidificar. Em cada placa, foram colocados 4 cilindros de aço inox, sendo 2 destinados a receber a solução padrão e 2 a solução amostra.

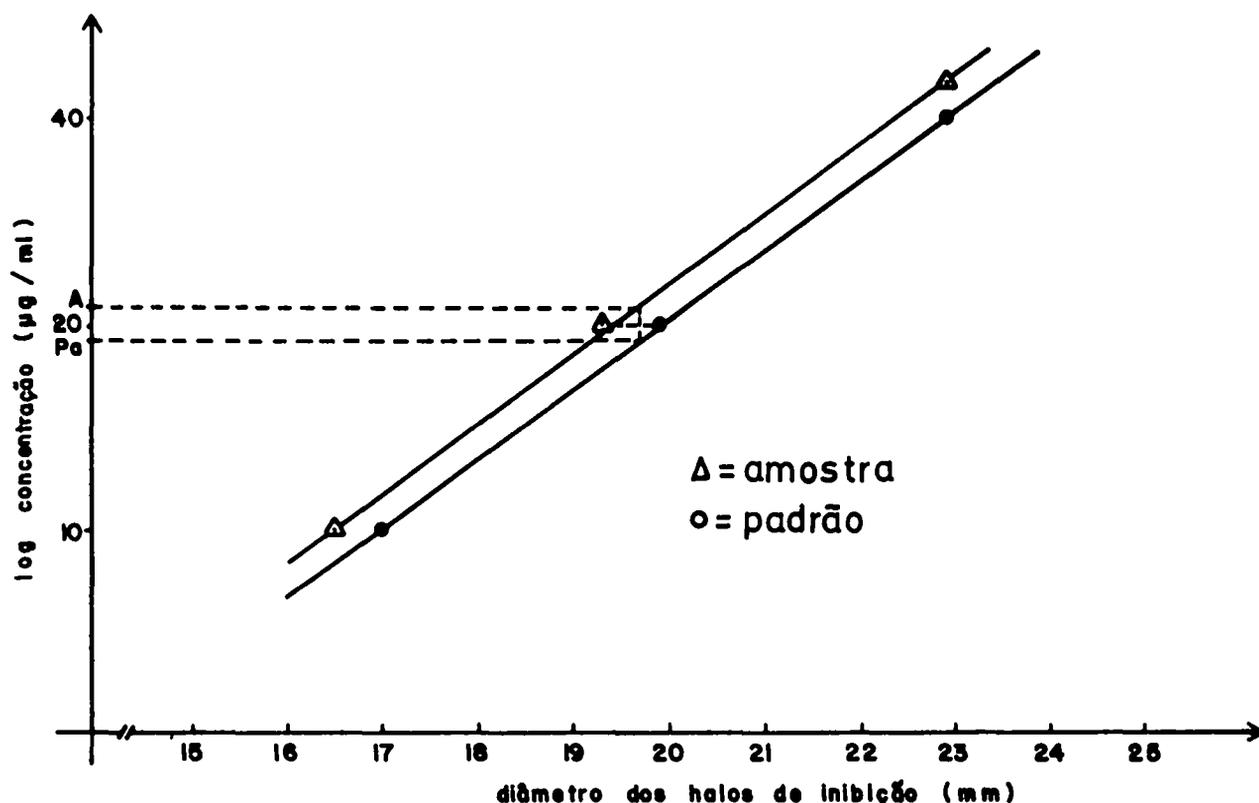
g) Ensaio

Os cilindros de cada 8 placas receberam 3 gotas de cada diluição do padrão e da amostra, totalizando 16 leituras para cada uma das 3 diluições de padrão e amostra.

O conjunto foi incubado em estufa microbiológica a 32-35°C por 18 horas, e os halos de inibição foram medidos em centésimo de milímetros com paquímetro Polaris 6411 G 15.

h) Obtenção dos resultados

A atividade percentual da Cefalexina monoidratada foi determinada pelo método gráfico, relacionando-se o logaritmo das concentrações com a média aritmética dos diâmetros dos halos de inibição para cada diluição de padrão e amostra. A figura 4 exemplifica a determinação.



$$A \% = \frac{\log Pa}{\log A} \times \frac{1000}{Cp} \times 100$$

A = amostra

Pa = padrão

Cp = atividade do padrão em µg / mg

Figura 4 - Representação gráfica da determinação da atividade da Cefalexina monoidratada.

DETERMINAÇÃO DAS CONSTANTES FÍSICAS DO MEIO DISPERSANTE:

DENSIDADE

Foi determinada pelo método do picnômetro, seguindo-se a metodologia indicada na Farmacopéia Brasileira (31). Foram realizadas pesagens do picnômetro vazio, com água destilada recentemente fervida e com Óleo mineral. Os resultados correspondem à média aritmética de 3 determinações.

Cálculo:

$$D_{25}^{25} = \frac{P - p}{P_1 - p}$$

P - peso do picnômetro com o líquido que se quer determinar a densidade.

P₁ - peso do picnômetro com o líquido padrão (água destilada).

p - peso do picnômetro vazio.

O ensaio foi realizado a 25°C.

VISCOSIDADE

Foi realizada com Viscosímetro de Queda de Esfera segundo Höppler, em aparelho Haake modelo B/BH 74120, acoplado a um Banho Termostatizado Circulante Haake FJ. A esfera utilizada foi a nº 2, com constante K = 0,0527 e densidade 2,391. As determinações foram realizadas à temperatura de 25°C, e os resultados correspondem à média aritmética de 10 determinações.

Cálculos:

$$N = t (d_1 - d_2) K$$

N - viscosidade do líquido em g.cm⁻¹.s⁻¹ (mPa.s)

t - tempo de queda em segundos

K - constante da esfera

d₁ - densidade da esfera (g/cm³)

d₂ - densidade do líquido na temperatura de medição.

DESENVOLVIMENTO DA FORMA FARMACÊUTICA

ESTUDO DAS PRÉ-FORMULAÇÕES:

Método de extração para avaliação quantitativa do antibiótico

Três métodos foram testados para a extração da Cefalexina monoidratada da forma farmacêutica. A metodologia que ora descrevemos apresentou resultados adequados e o isolamento do produto foi comprovado por cromatografia.

O conteúdo de 2 frascos contendo 60 ml da suspensão foi juntado e homogeneizado. Transferiram-se volumetricamente 10 ml da suspensão (equivalente a 250 mg de Cefalexina monoidratada) para uma ampola de decantação de 250 ml e extraiu-se 4 vezes com porções de 100 ml de água destilada e uma vez com 50 ml, sendo que com a água utilizada na primeira extração lavou-se exaustivamente a pipeta volumétrica. Juntaram-se os extratos aquosos em balão volumétrico de 500 ml e completou-se o volume com água destilada. Transferiram-se cerca de 25 ml da solução para uma ampola de decantação de 125 ml e lavou-se 3 vezes com porções de 15 ml de clorofórmio, desprezando-se-as. Separou-se a solução-mãe, contendo 0,5mg/ml, que foi adequadamente diluída de modo a obter as concentrações para as determinações espectrofotométrica e microbiológica.

Os ensaios cromatográficos foram realizados em placas de 20 x 20 cm, utilizando como adsorvente Sílica Gel GF 254 em camadas com espessura de 0,2mm e em placas de alumínio CCM SIF 10 x 20 cm de sílica gel com indicador 254 nm com camadas de 0,2 mm de espessura. As placas foram ativadas a 115°C por 20 minutos. O eluente foi uma mistura de acetato de etila, ácido acético e água (3:1:1). As manchas foram detectadas sob luz ultravioleta a 254 nm.

Teste de incompatibilidades entre os componentes das pré-fórmulas.

Foram preparadas pré-formulações, contendo ou não princípio ativo, as quais foram expostas por 6 dias à temperatura de 50°C, em estufa termostaticada SE. Retilinea Fanen Mod. 320/2. Nas pré-fórmulas que continham o antibiótico, seu teor foi determinado antes e após o teste. Em todas, foram observadas as características de cor, odor e sabor. As pré-formulações testadas estão apresentadas no Quadro 1.

Floculação controlada e cinética de sedimentação

Tomando por base os resultados do teste de incompatibilidades, propôs-se uma formulação padrão para a sequência dos estudos:

Cefalexina monoidratada	2,5 g
Cloreto de cetilpiridínio monoidratado	q.s.
Sacarose pulverizada Tamis 90 (31)	1,0 g
Óleo de limão	0,2 ml
Óleo mineral q.s.p.	100,0 ml

Preparou-se onze pré-fórmulas, denominadas de F0 a F10, a primeira isenta do floculante e as demais contendo quantidades crescentes da substância (Quadro 2).

A seguir, colocou-se 25 ml de cada preparação em provetas graduadas de 25 ml, agitou-se e, nos tempos adequados, foram verificados os volumes do sedimento, até estabilização total. A partir desses dados verificou-se a eficiência do floculante através do cálculo da relação Hs/H1 e de fotomicrografias do sedimento final de cada uma. Para a confecção das fotomicrografias, foi colhida uma amostra do sedimento, com auxílio de pipeta de Pasteur, a qual foi distendida em lâmina para microscópio e fotografada em equipamento para fotomicrografia Carl

Zeiss mod. 30G549, utilizando aumento original de 100x. A cinética de sedimentação também foi avaliada através do cálculo da velocidade média de sedimentação \bar{V}_s .

PROPOSIÇÃO DA FORMA FARMACÊUTICA FINAL

Após criteriosa verificação da literatura especializada, na forma farmacêutica suspensão, bem como dos resultados obtidos nos testes anteriores, estabeleceu-se a seguinte formulação, que foi utilizada no prosseguimento dos estudos:

Cefalexina monoidratada	2,5 g
Cloreto de cetilpiridínio monoidratado	0,1 g
Sacarose pulverizada Tamis 90 (31)	1,0 g
Óleo de limão	0,2 ml
Óleo mineral q.s.p.	100,0 ml

Cabe observar, que um ensaio prévio demonstrou a viabilidade técnica da formulação, principalmente no que diz respeito à estabilidade física e térmica, bem como a tecnologia de fabricação.

PREPARAÇÃO DA FORMA FARMACÊUTICA.

A forma farmacêutica em estudo, Suspensão de Cefalexina monoidratada a 2,5%, foi preparada segundo formulação anteriormente sugerida e tecnologia otimizada em testes prévios. A tecnologia empregada consistiu, primeiramente, em misturar intimamente a Cefalexina monoidratada com o Cloreto de cetilpiridínio e adicionar parte do Óleo mineral, sob agitação, até a formação de uma dispersão viscosa homogênea. A essa mistura foi adicionado cerca de 60% do total do Óleo, sob agitação constante, em agitador Biomatic T 1003, sendo, após, adicionado o Óleo de limão e a Sacarose e completado o volume com Óleo mineral, mantendo-se a agitação até completa homogeneização. A seguir, a

Suspensão foi novamente homogeneizada, em Moinho Coloidal Tipo M 332-6 e envazada em frascos ambar de 100 ml (contendo 60 ml da suspensão) com tampa de rosca e batoque, em máquina Erweka Ar 400, para enchimento de líquidos a pistão. Logo após a preparação, a Suspensão foi submetida a análise quanto ao aspecto e caracteres organolépticos, assim como realizadas determinações quantitativa, densidade, pH e viscosidade. O volume de suspensão produzido foi de 5 litros.

DETERMINAÇÃO DAS CONSTANTES FÍSICO-QUÍMICAS DA SUSPENSÃO

a) Densidade

Foi empregado o método do picnômetro, já descrito anteriormente. Foram realizadas determinações para a suspensão recém-preparada e em todos os tempos em que se determinou o teor do princípio ativo durante os testes de decomposição térmica e fotoquímica. Os ensaios ocorreram a 25°C.

b) Viscosidade

Foi utilizado o Viscosímetro de Queda de Esferas segundo Höppler, aparelho Haake mod. B/BH 74120, acoplado a um banho circulante termostatizado Haake FJ, empregando a metodologia já descrita anteriormente. Foram realizadas determinações para a suspensão recém-preparada e em todos os tempos em que se determinou o teor do princípio ativo, durante os testes de decomposição térmica e fotoquímica.

c) Determinação do pH

O conteúdo de 2 frascos foi homogeneizado, uma alíquota de 20 ml de suspensão transferida para um frasco erlenmeyer com tampa esmerilhada, adicionada de 100 ml de água destilada e deixada sob agitação por 15 minutos. A seguir, o líquido foi transferido para uma ampola de decantação e deixado em repouso até separação das fases. O pH foi determinado em aparelho

Corning mod. 5, na fase aquosa, para a suspensão recém-preparada e em todos os tempos em que se determinou o teor do princípio ativo, nos testes de decomposição térmica e fotoquímica.

DEGRADAÇÃO FOTOQUÍMICA ACELERADA

Amostras da suspensão, acondicionadas na embalagem original, foram submetidas à ação da luz solar simulada, ou seja, luz fluorescente de intensidade 60, 28-62, 43 Klx (5600-5800 "foot-candle"), a uma distância de 40 cm. A temperatura ambiente foi de 20 1°C. A degradação do princípio ativo foi avaliada a cada 5 dias, durante um período total de 30 dias. A extração do princípio ativo foi realizada pelo método descrito anteriormente. As concentrações percentuais foram determinadas pelo método microbiológico dos cilindros em placas. À cada determinação quantitativa foram observadas, também, as características de cor e redispersibilidade do sedimento.

DEGRADAÇÃO TÉRMICA ACELERADA

Amostras da suspensão, acondicionadas na embalagem original, foram divididas em três lotes e submetidas às temperaturas de 40, 50 e 60°C, em estufas termostatizadas Biomatic. O princípio ativo remanescente foi avaliado a cada 5 dias, durante um período total de 30 dias. A extração do princípio ativo foi realizada pelo método descrito anteriormente. As concentrações percentuais foram obtidas pelo método espectrofotométrico a 262 nm e as atividades percentuais pelo método microbiológico dos cilindros em placa. À cada determinação quantitativa foram observados, também, os aspectos de cor e redispersibilidade do sedimento.

TESTE DE DISSOLUÇÃO "IN VITRO"

A cedência do princípio ativo foi realizada em Célula de Fluxo Desaga. O aparelho foi montado com 3 células de fluxo horizontal sendo em cada uma, introduzido 5 ml da suspensão, equivalentes a 125 mg de Cefalexina monoidratada. O fluxo do líquido de dissolução foi regulado em 40ml/hora. O teste desenvolveu-se durante 3 horas, sendo que até a 1.^a hora as alíquotas foram colhidas a cada 10 minutos, daí até a 2.^a hora a cada 20 minutos e no último intervalo a cada 30 minutos. Os volumes das alíquotas foram medidos e o antibiótico avaliado quantitativamente pelo método espectrofotométrico, utilizando como branco o líquido de dissolução, ou seja, solução de ácido clorídrico 0,1N.

ENSAIOS BIOLÓGICOS

DISPONIBILIDADE BIOLÓGICA

A ratos Wistar adultos, pesando cerca de 170-190 g, foram administradas, com sonda gástrica, doses da suspensão de Cefalexina monoidratada equivalentes a 25 mg/kg. Após 30, 60, 90, 120 e 180 minutos da administração, os animais foram sedados com pentobarbital sódico na dose de 40 mg/kg, via intraperitoneal. A seguir, a região próxima à carótida foi depilada e dissecada, e esta, uma vez exposta, foi seccionada, sendo o sangue coletado em tubos de centrífuga. O material coletado foi mantido em estufa a 35°C durante 1 hora e 30 minutos para a completa separação do soro sendo, após, centrifugado a 2500 rpm por 10 minutos em centrífuga Fanem Exelsor 2. A Cefalexina monoidratada foi avaliada diretamente no soro dos animais por método microbiológico e expressa em µg/ml. Os resultados correspondem à média aritmética do ensaio em cinco animais por determinação.

TOXICIDADE

Dois grupos de camundongos, contendo sete animais em cada um, pesando cerca de 22-26g, receberam uma solução aquosa extrativa da suspensão mantida à temperatura ambiente e daquela mantida a 60°C durante 30 dias, respectivamente. A via de administração foi a endovenosa e a dose, de acordo com a máxima diária recomendada (65) foi de 50 mg/kg. Os animais foram observados durante 72 horas, sendo o teste interpretado de acordo com a orientação da Farmacopéia Brasileira (31).

DROGAS, FÁRMACOS E REAGENTES

Cefalexina monoidratada micropulverizada (Bristol), Cefalexina monoidratada padrão (Lilly), Cloreto de cetilpiridínio monoidratado (Merck), Sacarina base (Henrifarma), Óleo mineral (Delaware), Óleo de menta (Frutiflora), Óleo de laranja (Crisci), Óleo de tangerina (Crisci), Óleo de limão (Crisci), Sacarose pulverizada tamis 90 segundo a Farmacopéia Brasileira 3.ed. (União), Meios de cultura números 1, 2 e 3 segundo GROVE & RANDALL (Merck), Fosfato de potássio monobásico p.a. (Merck), Ácido acético glacial p.a. (Merck), Acetato de etila p.a. (Merck), Sílica gel GF 254 tipo 60 (Merck), Nembutal sódico (Abbot), Folhas de alumínio para cromatografia CCM SIF 10x20cm revestidas com sílica gel 254 em camadas de 0,2 mm (Riedel).

Os insumos utilizados na formulação foram analisados segundo códigos oficiais (11, 31, 76, 102), estando dentro dos limites estabelecidos nas respectivas especificações.

RESULTADOS

CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA PRIMA

TESTES DE IDENTIFICAÇÃO

A Cefalexina monoidratada respondeu positivamente aos testes químicos de identificação a que foi submetida. O espectro de absorção no ultra-violeta foi concordante com o da Cefalexina monoidratada padrão, apresentando λ max. a 262 nm.

DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE

Apresentou teor de umidade da ordem de 6%, estando, portanto, dentro dos limites estabelecidos pelos códigos oficiais (11, 102).

ANÁLISE GRANULOMÉTRICA

A Cefalexina monoidratada apresentou a seguinte composição granulométrica percentual:

partículas menores que	3,45 μm		59,34%
	3,45 μm —	6,90 μm	17,03%
	6,90 μm —	10,35 μm	10,16%
	10,35 μm —	13,80 μm	6,32%
	13,80 μm —	17,25 μm	6,04%
	17,25 μm —	20,70 μm	1,10%

Esses resultados estão ilustrados na figura 5.

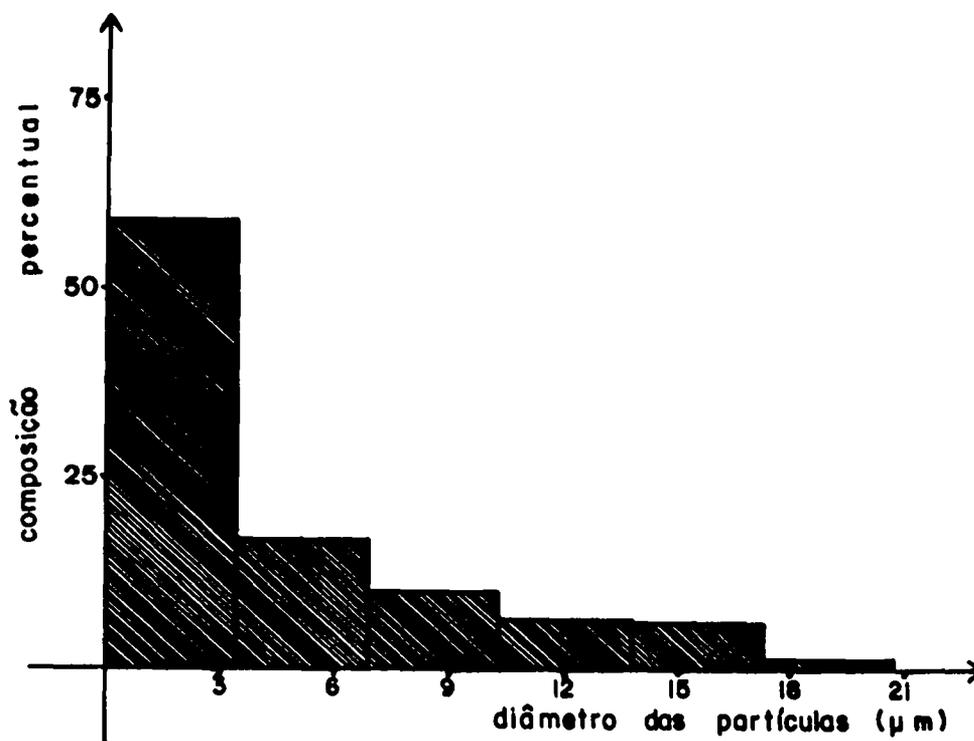


Figura 5 - Representação gráfica da composição granulométrica percentual da Cefalexina monoidratada.

DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DA CEFALEXINA MONOIDRATADA

Espectrofotometria no ultra-violeta

A percentagem relativa de absorvidade a 262 nm foi de 100,7 estando, portanto, dentro dos limites estabelecidos pelos códigos oficiais (11, 31, 102). A curva padrão de absorção, bem como a equação da reta, estão apresentadas na figura 6. Os resultados correspondem à média aritmética de três determinações. Houve linearidade na resposta do detector dentro da faixa de concentração utilizada (5 a 40 µg/ml).

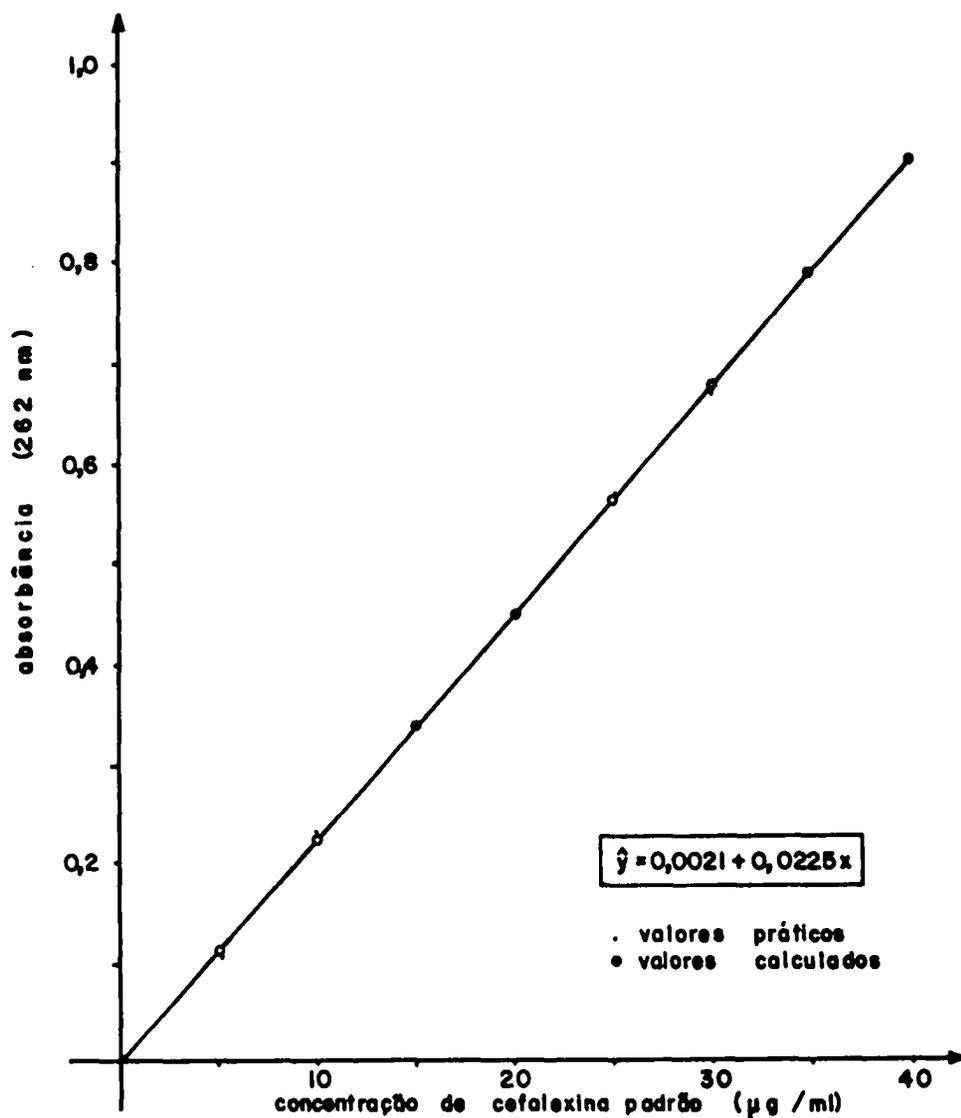


Figura 6 - Curva padrão de absorção da Cefalexina monoidratada a 262 nm.

Ensaio microbiológico

A atividade da Cefalexina monoidratada frente ao método microbiológico dos cilindros em placa foi de 1008,7 $\mu\text{g/mg}$ estando, portanto, dentro dos limites estabelecidos pelos códigos oficiais (11, 31, 102).

DETERMINAÇÃO DAS CONSTANTES FÍSICAS DO MEIO DISPERSANTE

O Óleo mineral utilizado na preparação da Suspensão de Cefalexina monoidratada apresentou densidade relativa, utilizando-se água destilada como líquido referência a 25°C, da ordem de 0,8347. O resultado corresponde à média aritmética de 3 de terminações.

A viscosidade, determinada a 25°C em Viscosímetro de Queda de Esfera segundo Höppler, apresentou resultados da ordem de 65,86 mPa.s. O resultado corresponde à média aritmética de 10 determinações.

DESENVOLVIMENTO DA FORMA FARMACÊUTICA

ESTUDO DAS PRÉ-FORMULAÇÕES

Método de extração para avaliação quantitativa do antibiótico

A metodologia empregada para a extração e isolamento da Cefalexina monoidratada, da forma farmacêutica, apresentou ótimos resultados, pois, durante os testes de decomposição térmica e fotoquímica não houve diferenças significativas entre concentrações percentuais e potência antibiótica, mesmo para as amostras com maior grau de degradação. (Quadros 3, 4 e 5).

Paralelamente, a verificação cromatográfica das diversas etapas da extração não detectou a existência de outros produtos, que não a Cefalexina, na solução final que foi avaliada espectrofotometricamente e por método microbiológico (Figura 8).

Os pontos de aplicação nas placas cromatográficas correspondem, respectivamente, a:

- ponto 1 - solução clorofórmica da suspensão.
- ponto 2 - padrão do Óleo essencial de limão.
- ponto 3 - fase aquosa inicial.
- ponto 4 - padrão de Cloreto de cetilpiridínio.
- ponto 5 - fase clorofórmica.
- ponto 6 - padrão de Cefalexina monoidratada.
- ponto 7 - fase aquosa final.
- ponto 8 - fase oleosa extraída.

A separação das fases foi efetuada de acordo com o esquema apresentado na figura 7.

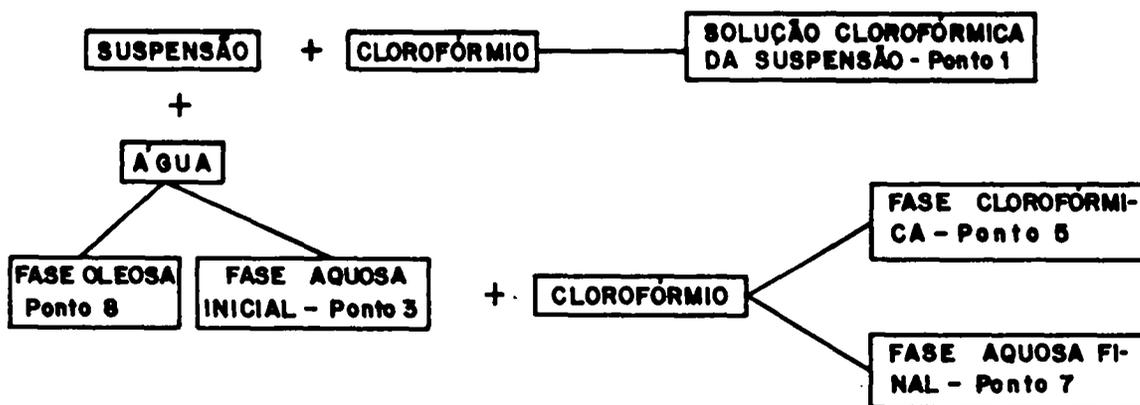


Figura 7 - Esquema de separação das fases para aplicação cromatográfica.

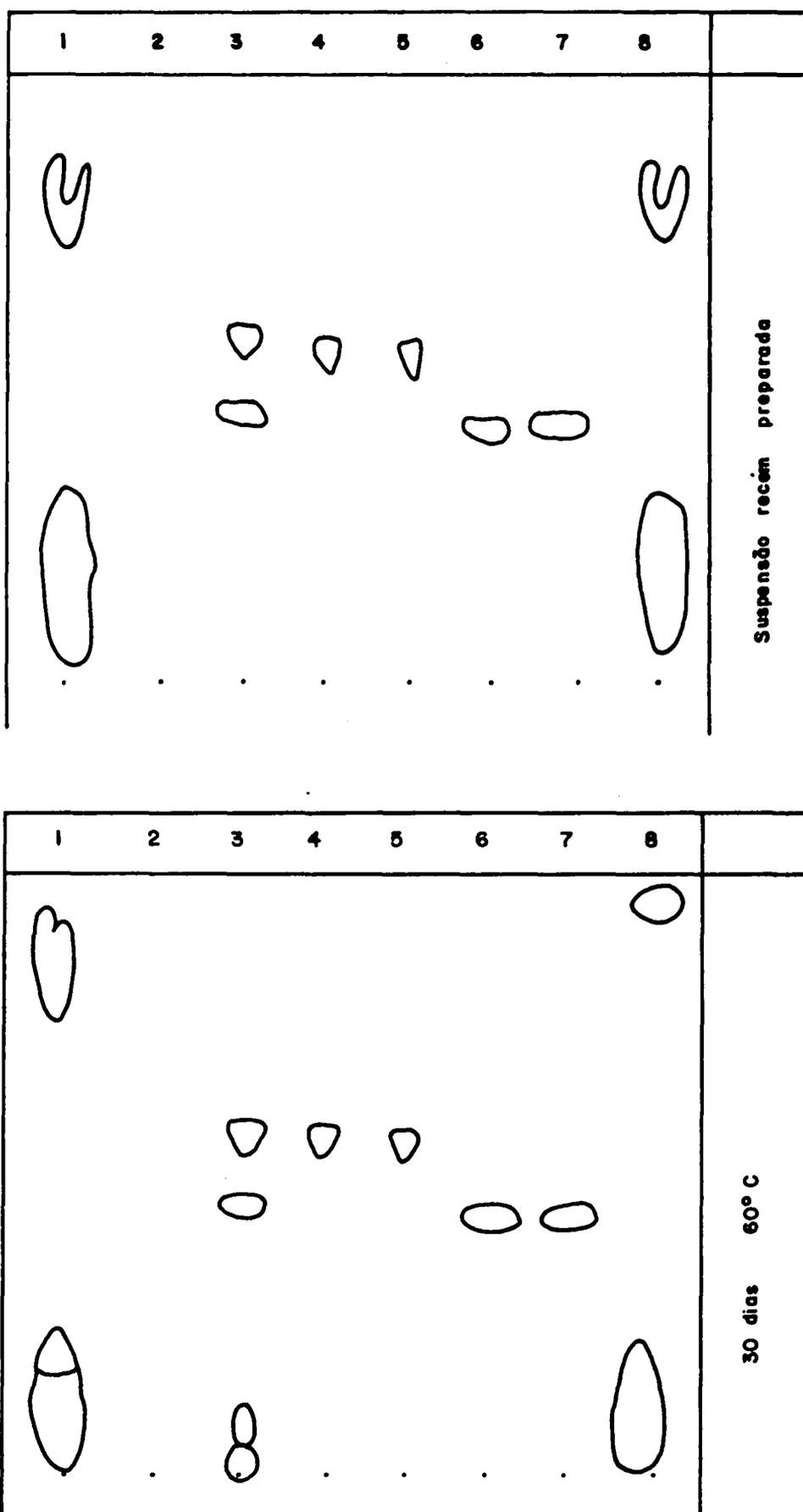


Figura 8 - Esquema das placas cromatográficas das diversas fases da extração da Cefalexina monoidratada.

Teste de incompatibilidades entre os componentes das pré-fórmulas

As pré-formulações estudadas, bem como os resultados obtidos estão sumarizados no Quadro 1.

COMPONENTES	PRE - FÓRMULAS															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Cefalexina monodratada	2,5g	2,5g	2,5g	2,5g	2,5g	2,5g	-	-	-	-	-	2,5g	2,5g	2,5g	2,5g	2,5g
Cloreto de Cetilpiridínio	-	100mg	100mg	100mg	-	-	-	-	100mg	100mg	100mg	100mg	100mg	100mg	100mg	100mg
Sacarina base	-	-	300mg	300mg	300mg	-	300mg	300mg	-	300mg	300mg	-	-	-	-	-
Sacarose pulverizada	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0g	1,0g	1,0g	1,0g	1,0g
Óleo de menta	-	-	-	0,2ml	-	0,2ml	-	0,2ml	-	-	0,2ml	-	-	-	-	-
Óleo de limão	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2ml	-	-	-	0,2ml
Óleo de laranja	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2ml	-	-
Óleo de tangerina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2ml
Óleo mineral q.s.p.	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml
Teor inicial (%)	100,5	100,4	99,9	100,2	100,2	100,1	-	-	-	-	-	99,5	99,5	102,2	102,4	100
Observações	cor, odor e sabor característicos	cor, odor e sabor característicos	cor amarela, odor de enxofre, sabor alterado	cor alaranjada, odor de enxofre, sabor alterado	cor, odor e sabor característicos	cor, odor e sabor característicos	sem alterações perceptíveis	cor, odor e sabor característicos								
Teor final (%)	99,8	99,8	90,8	85,5	95,5	95,5	-	-	-	-	-	95,5	100,1	102	102,7	99,8

Quadro 1 - Composição das pré-fórmulas. Resultados observados por exposição durante 6 dias a temperatura de 60°C.

Floculação controlada e cinética de sedimentação

Foram estudadas onze pré-formulações, sendo que a primeira (F_0) não continha flocculante e as outras (F_1 a F_{10}) apresentavam quantidades crescentes do flocculante. A partir dos volumes finais do sedimento foi calculada a relação H_s/H_l para cada caso, verificando-se que o maior grau de floculação foi obtido com o emprego de 0,3911 mMol% de Cloreto de cetilpiridínio. Ainda, baseando-se nos tempos necessários para a sedimentação total e nos volumes finais do sedimento foi calculado, também, para cada caso, a velocidade média de sedimentação, verificando-se que a menor delas foi obtida com o emprego de 0,3911 mMol% de flocculante. Dos sedimentos finais foram feitas fotomicrografias em lâminas, comprovando a floculação do sistema. Os resultados obtidos encontram-se sumarizados no Quadro 2 e Figuras 9, 10 e 11.



Figura 9 - Resultado prático do estudo da floculação controlada. F_0 a F_{10} da esquerda para a direita.

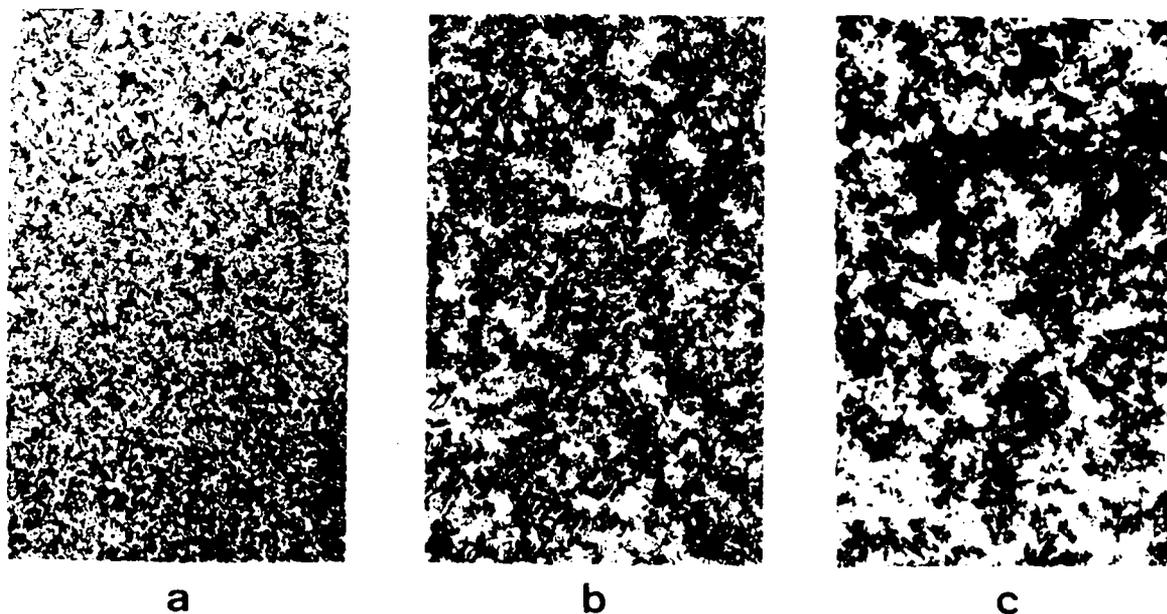


Figura 10- Fotomicrografias do sedimento das suspensões,
a- suspensão não flocculada (F_0);
b- suspensão parcialmente flocculada (F_1);
c- suspensão flocculada (F_5).

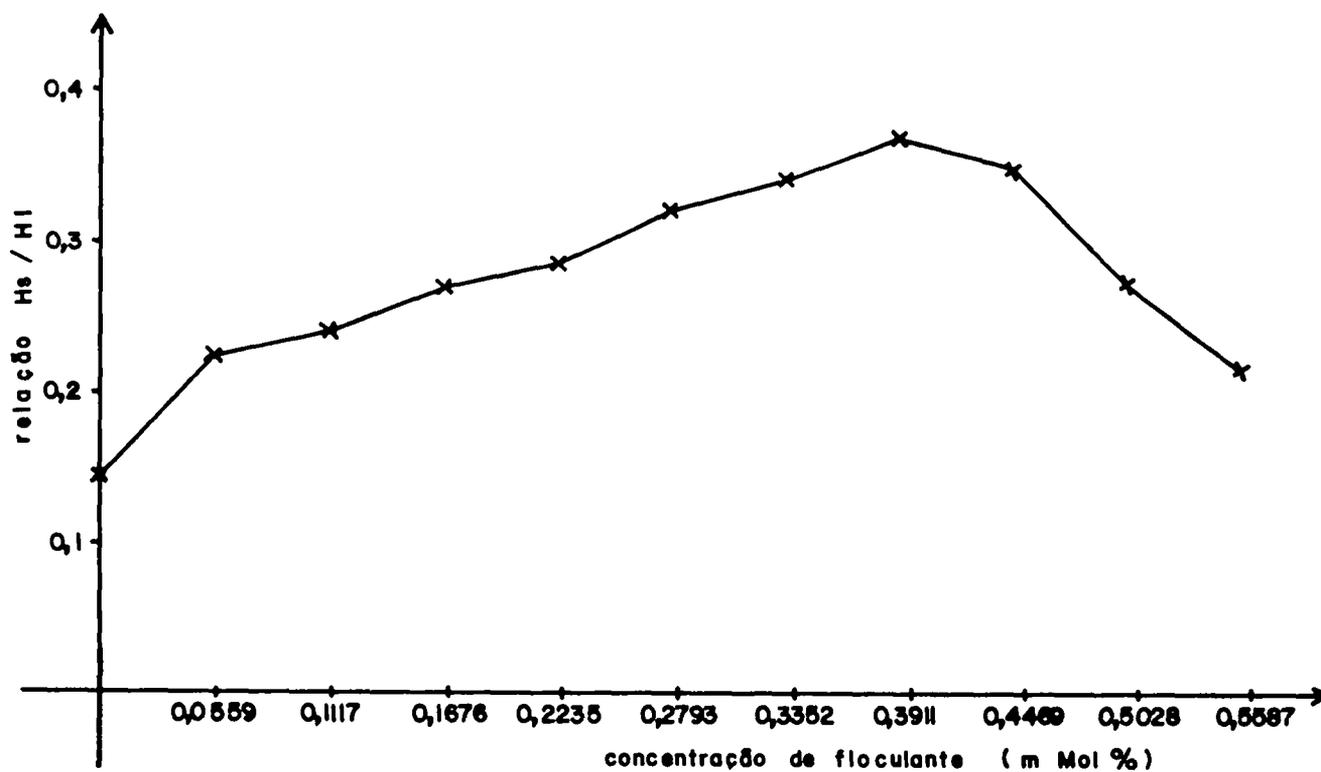


Figura 11- Influência da concentração de Cloreto de cetilpiridíno na relação Hs/Hl.

HSLE	VOLUME DE SEDIMENTAÇÃO EM FUNÇÃO DO TEMPO (cm ³ /hora)												Hs/H1	\bar{V}_s (cm ³ /hora)	Floculante	
	1h	2h	3h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	18h	24h	30h			mg/l	mMol/l
F ₀	5,4	4,2	3,9	3,8	3,8	3,7	<u>3,6</u>	3,6	3,6	3,6	3,6	3,6	0,144	2,140	0	0
F ₁	10,8	7,8	7,0	6,4	5,9	5,8	5,7	<u>5,6</u>	5,6	5,6	5,6	5,6	0,224	1,617	20	0,0559
F ₂	11,4	8,4	7,5	6,9	6,5	6,3	6,1	<u>6,0</u>	6,0	6,0	6,0	6,0	0,240	1,583	40	0,1117
F ₃	13,0	9,2	8,3	7,7	7,2	7,1	6,9	<u>6,7</u>	6,7	6,7	6,7	6,7	0,268	1,525	60	0,1676
F ₄	15,8	10,0	9,0	8,3	7,7	7,5	7,3	7,2	7,2	<u>7,1</u>	7,1	7,1	0,284	0,994	80	0,2235
F ₅	16,6	11,6	10,3	9,6	8,9	8,6	8,3	8,2	8,1	<u>8,0</u>	8,0	8,0	0,320	0,944	100	0,2793
F ₆	21,0	13,4	11,8	10,8	9,5	9,1	8,9	8,6	8,6	<u>8,5</u>	8,5	8,5	0,340	0,917	120	0,3352
F ₇	21,4	13,8	12,4	11,4	10,5	10,1	9,8	9,4	9,3	<u>9,2</u>	9,2	9,2	0,368	0,878	140	0,3911
F ₈	18,8	12,2	11,0	10,2	9,6	9,4	9,2	8,8	8,8	<u>8,7</u>	8,7	8,7	0,348	0,906	160	0,4469
F ₉	17,6	11,0	9,6	8,9	8,3	7,6	7,0	<u>6,8</u>	6,8	6,8	6,8	6,8	0,272	1,517	180	0,5028
F ₁₀	17,4	8,8	7,6	6,8	6,0	5,7	5,6	<u>5,4</u>	5,4	5,4	5,4	5,4	0,216	1,633	200	0,5587

Quadro 2 - Estudo da floculação controlada e cinética de sedimentação.

PREPARAÇÃO DA FORMA FARMACÊUTICA E SUAS CARACTERÍSTICAS

O processo de preparação da suspensão transcorreu de maneira fácil, demonstrando ser de simples execução e ocorrendo perfeita incorporação do princípio ativo, finamente dividido, ao meio dispersante. A suspensão preparada, Cefalexina monoidratada a 2,5%, apresentou-se como um líquido branco leitoso, de aspecto homogêneo que, com o tempo, exibiu uma superfície límpida. A concentração percentual, pelo método espectrofotométrico, foi de 103,66% e a atividade percentual, pelo método microbiológico dos cilindros em placa, foi de 104,05%. A densidade relativa a 25°C foi de 0,8469, a viscosidade à mesma temperatura foi da ordem de 67,87 mPa.s, e o pH da solução aquosa extrativa igual a 4,55.

DEGRADAÇÃO FOTOQUÍMICA ACELERADA

As concentrações percentuais de Cefalexina monoidratada nas amostras submetidas à ação da luz solar simulada apresentaram degradação da ordem de 5,57% no final de 30 dias de exposição. As atividades percentuais das mesmas amostras, no mesmo espaço de tempo, mostraram uma queda de 7,14%. Os resultados obtidos para as concentrações e atividades percentuais estão sumarizados no Quadro 3. Os logarítimos das respectivas concentrações e atividades percentuais foram lançados em gráficos, em função do tempo de estocagem, estando ilustrados na Figura 12. A partir desses dados, calcularam-se as constantes de velocidade de degradação, cujo valor médio foi de $2,265588 \times 10^{-3} \text{ dia}^{-1}$ pelo método espectrofotométrico e de $2,350433 \times 10^{-3} \text{ dia}^{-1}$ pelo método microbiológico e, através da expressão abaixo calculou-se a equação das respectivas retas (60, 82).

$$\log C = \log C_0 - \frac{\bar{K}}{2,303} \cdot t \quad \text{onde,}$$

- t - tempo em dias
 Co - concentração inicial do princípio ativo
 C - concentração do princípio ativo no tempo t
 K - valor médio das constantes de velocidade de decomposição.

As equações das retas estão ilustradas na figura 12. Foi determinada a ordem da reação, a qual demonstra que a degradação do princípio ativo ocorre segundo reação com cinética de primeira ordem.

Método de Determinação	TEMPO DE ESTOCAGEM (dias)					
	5	10	15	20	25	30
Espectrofotométrico	98,46	97,62	97,13	96,35	94,59	94,43
Microbiológico	99,47	97,83	96,62	95,60	94,02	92,86

Quadro 3 - Influência da luz solar simulada na degradação da Cefalexina monoidratada.

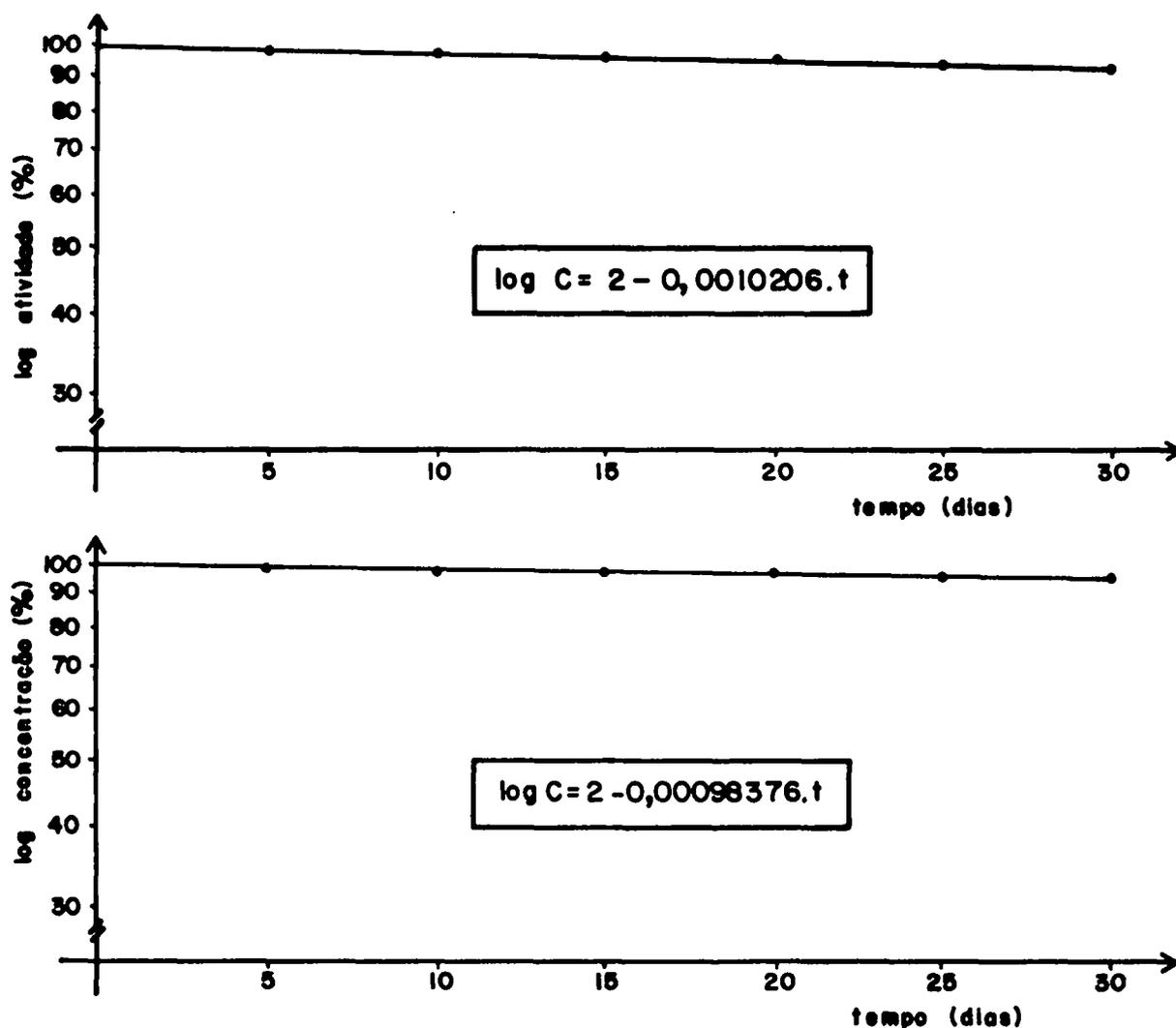


Figura 12- Representação grãfica do efeito da luz solar simulada sobre a atividade e concentração percentuais da Cefalexina monoidratada, em função do tempo de exposição.

DEGRADAÇÃO TÉRMICA ACELERADA

As amostras estocadas nas diferentes temperaturas e nos diversos tempos, mostraram queda crescente nas concentrações e atividades percentuais da Cefalexina monoidratada, em função do aumento da temperatura, bem como do tempo de exposição às mesmas.

Os valores determinados espectrofotometricamente expressam as concentrações percentuais residuais da Cefalexina monoi

dratada nas amostras estudadas, podendo ser visualizados no quadro 4. Esses valores foram lançados em gráfico, relacionando-se o logaritmo das concentrações percentuais em função dos tempos de exposição à cada temperatura considerada, estando ilustrados na figura 13.

Os valores obtidos através do método microbiológico, expressam as atividades percentuais residuais do princípio ativo nas mesmas amostras anteriores, estando sumarizados no quadro 5. Esses valores foram plotados em gráfico através dos logaritmos das atividades percentuais residuais, em função dos tempos de exposição à cada temperatura considerada, podendo ser observados na figura 14.

TEMPERATURA °C	TEMPO DE ESTOCAGEM (dias)					
	5	10	15	20	25	30
40	99,85	99,01	98,74	98,35	97,37	95,96
50	99,05	98,03	97,01	96,11	94,13	93,38
60	96,13	92,02	91,13	87,57	83,24	80,31

Quadro 4 - Concentrações percentuais de Cefalexina monoidratada determinadas por espectrofotometria de ultravioleta.

TEMPERATURA °C	TEMPO DE ESTOCAGEM (dias)					
	5	10	15	20	25	30
40	99,75	99,02	98,68	98,94	97,19	95,43
50	99,48	98,67	96,63	96,08	95,61	90,02
60	96,09	91,99	90,93	86,51	83,01	79,89

Quadro 5 - Atividades percentuais de Cefalexina monoidratada determinadas pelo método microbiológico.

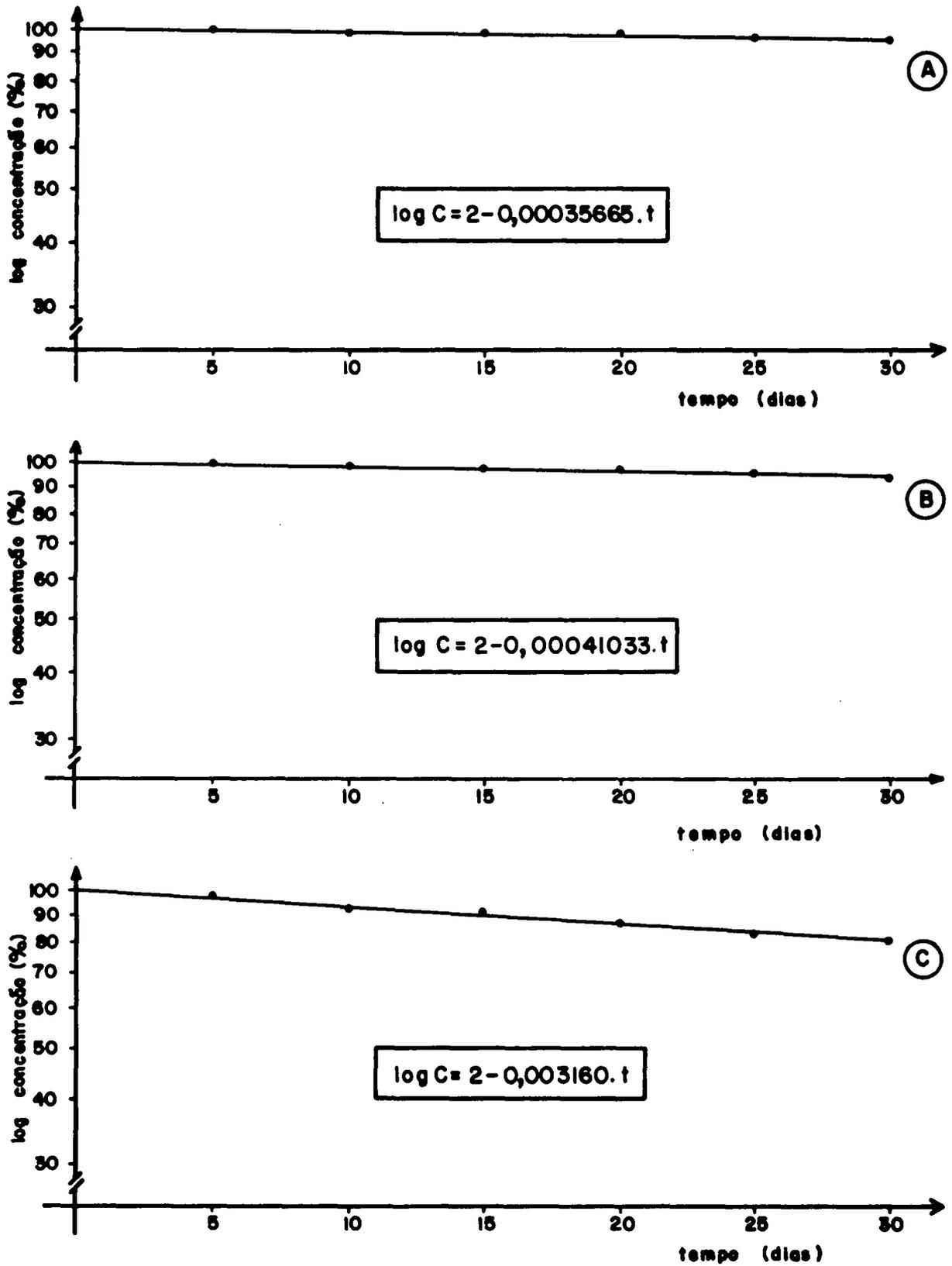


Figura 13- Representação gráfica do efeito da temperatura sobre a concentração percentual da Cefalexina monohidratada, em função do tempo e da temperatura de exposição.

A= 40°C

B= 50°C

C= 60°C

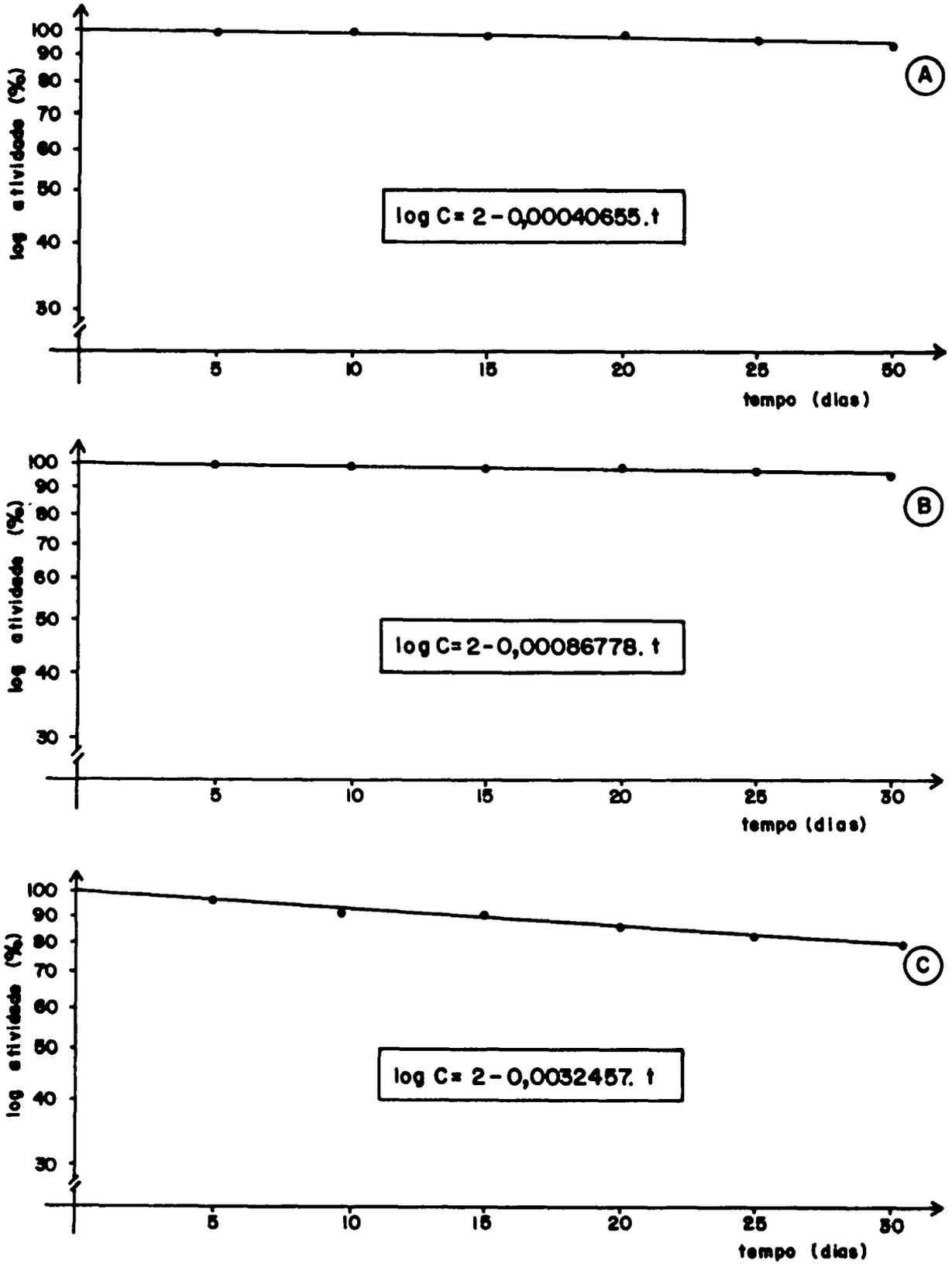


Figura 14- Representação gráfica do efeito da temperatura sobre a atividade percentual da Cefalexina monodrida, em função do tempo e da temperatura de exposição.

A= 40°C

B= 50°C

C= 60°C

CÁLCULO DAS CONSTANTES DE VELOCIDADE DE DECOMPOSIÇÃO

A partir dos resultados dos quadros 4 e 5, foram calculadas as constantes de velocidade de decomposição (K) para cada temperatura experimental, nos diferentes tempos, através da equação (60, 82):

$$K = \log \frac{C_0}{C} \times \frac{2,303}{t} \quad \text{onde,}$$

C_0 - concentração inicial do produto

C - concentração no tempo t

t - tempo em dias.

Pela média aritmética dos valores de K, calculados em cada tempo, obteve-se o K médio para cada temperatura, em ambos os casos, cujos resultados encontram-se abaixo relacionados:

Método espectrofotométrico:

$$\bar{K} 40^{\circ}\text{C} = 8,213613 \times 10^{-4} \text{ dia}^{-1}$$

$$\bar{K} 50^{\circ}\text{C} = 2,0965 \times 10^{-3} \text{ dia}^{-1}$$

$$\bar{K} 60^{\circ}\text{C} = 7,27671 \times 10^{-3} \text{ dia}^{-1}$$

Método microbiológico:

$$\bar{K} 40^{\circ}\text{C} = 9,362955 \times 10^{-4} \text{ dia}^{-1}$$

$$\bar{K} 50^{\circ}\text{C} = 1,99849 \times 10^{-3} \text{ dia}^{-1}$$

$$\bar{K} 60^{\circ}\text{C} = 7,474945 \times 10^{-3} \text{ dia}^{-1}$$

Aplicando-se esses valores à expressão abaixo (60, 82), foram determinadas as equações das retas, representadas nas figuras 13 e 14, respectivamente.

$$\log C = \log C_0 - \frac{K}{2,303} \cdot t$$

Pelo método gráfico, a partir desses resultados, foi de terminada a ordem de reação, a qual sugere uma cinética de de composição de primeira ordem.

DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE VIDA ÚTIL DA PREPARAÇÃO

O tempo necessário para que ocorresse uma degradação de 10% do princípio ativo (t_{10}) nas amostras estocadas em diferentes temperaturas, foi calculado pela expressão (6, 60):

$$t_{10} = \frac{2,303}{\bar{K}} \cdot \log \frac{C_0}{C} \quad \text{onde,}$$

\bar{K} - constante média de velocidade de decomposição

C_0 - concentração ou atividade inicial do princípio ativo

C - corresponde a 90% do princípio ativo.

Com esses dados e, através do método gráfico proposto por AMIRJAHED (6), foi calculado o tempo, em dias, para que a pre paração sofresse uma degradação de 10% à temperatura ambiente (25°C). Foram, então, plotados em gráfico os logarítmos de t_{10} em função dos respectivos inversos das temperaturas em graus absolutos. Os resultados estão apresentados nas figuras 15 e 16.

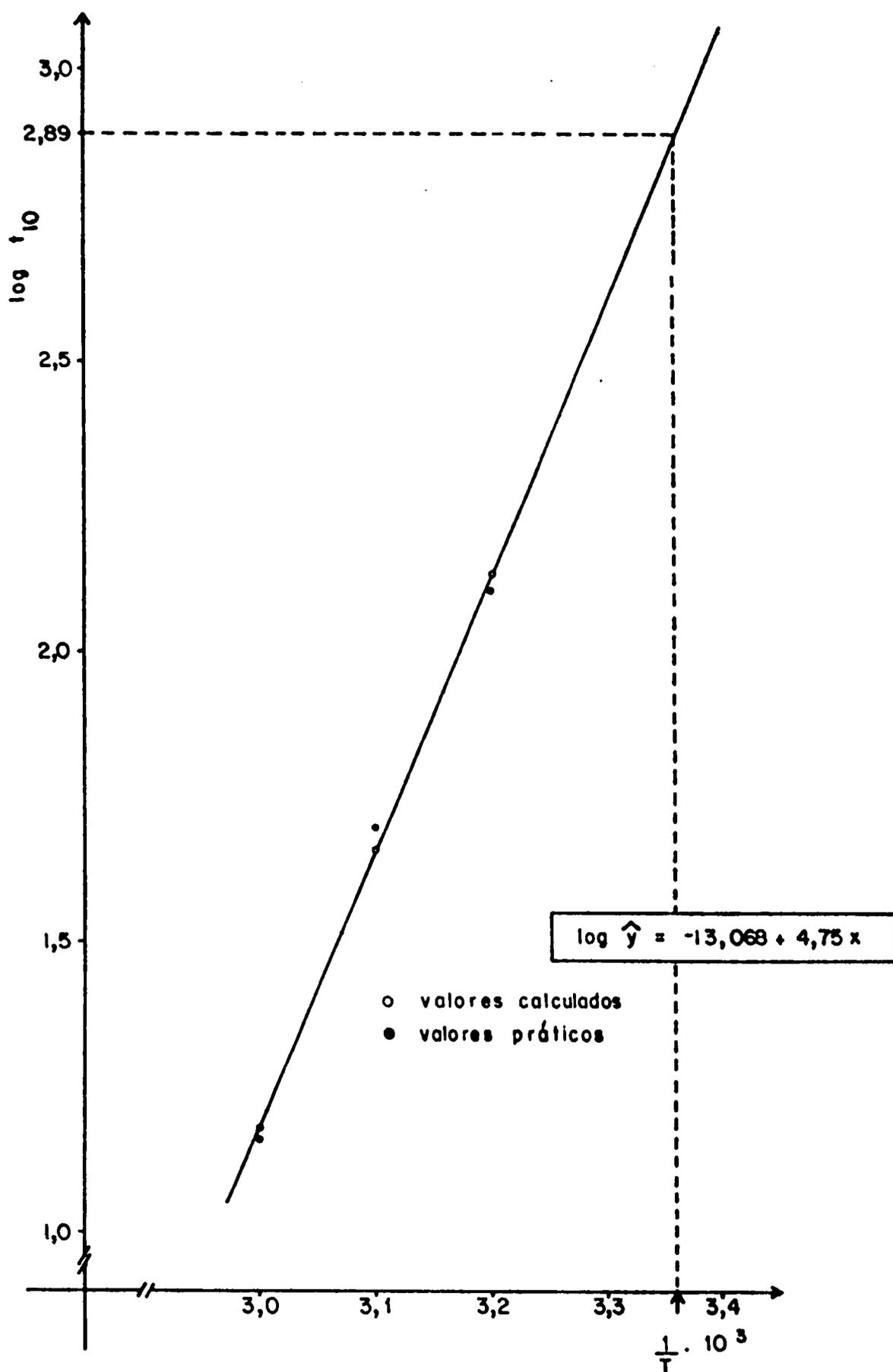


Figura 15- Representação da determinação do tempo de vida útil da Cefalexina monoidratada pelo método gráfico, a partir das concentrações percentuais.

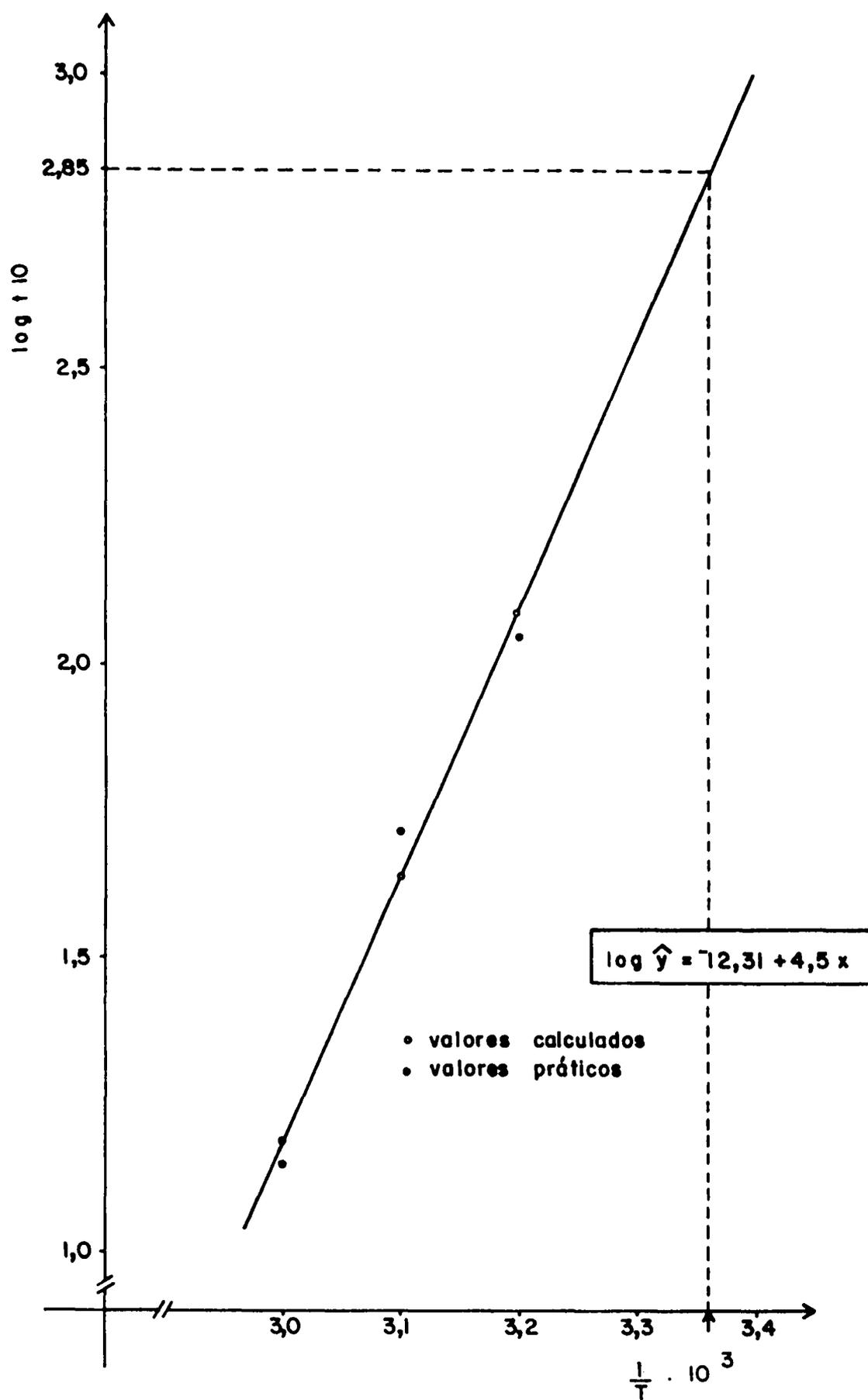


Figura 16- Representação da determinação do tempo de vida útil da Cefalexina monoidratada pelo método gráfico, a partir das atividades percentuais.

VERIFICAÇÃO DA REDISPERSIBILIDADE, COLORAÇÃO, pH E VISCOSIDADE

Durante os ensaios de decomposição fotoquímica e decomposição térmica acelerada, foram verificadas as variações do pH, viscosidade, coloração e redispersibilidade, à cada determinação quantitativa do princípio ativo, cujos resultados encontram-se sumarizados nos quadros 6 e 7 e ilustrados nas figuras 17 e 18.

Condições de estocagem	TEMPO DE ESTOCAGEM (dias)					
	5	10	15	20	25	30
40°C	*	*	*	*	*	*
50°C	*	*	*	*	**	**
60°C	**	**	***	***	***	***
Luz	*	*	*	*	*	*

Quadro 6 - Características de redispersibilidade das suspensões durante os processos de degradação térmica e fotoquímica.

- * redispersão por inversão na posição do frasco
- ** redispersão por agitação branda (tendência à compactação)
- *** redispersão por agitação moderada (camada compacta redispersível)

Condições de estocagem	TEMPO DE ESTOCAGEM (dias)					
	5	10	15	20	25	30
40°C	*	*	*	*	*	*
50°C	*	*	*	**	**	***
60°C	**	***	****	*****	*****	*****
Luz	*	*	*	*	*	*

Quadro 7 - Características de cor das suspensões durante os processos de degradação térmica e fotoquímica.

- * branco
- ** branco amarelado
- ***, ****, ***** intensificação da cor amarela.

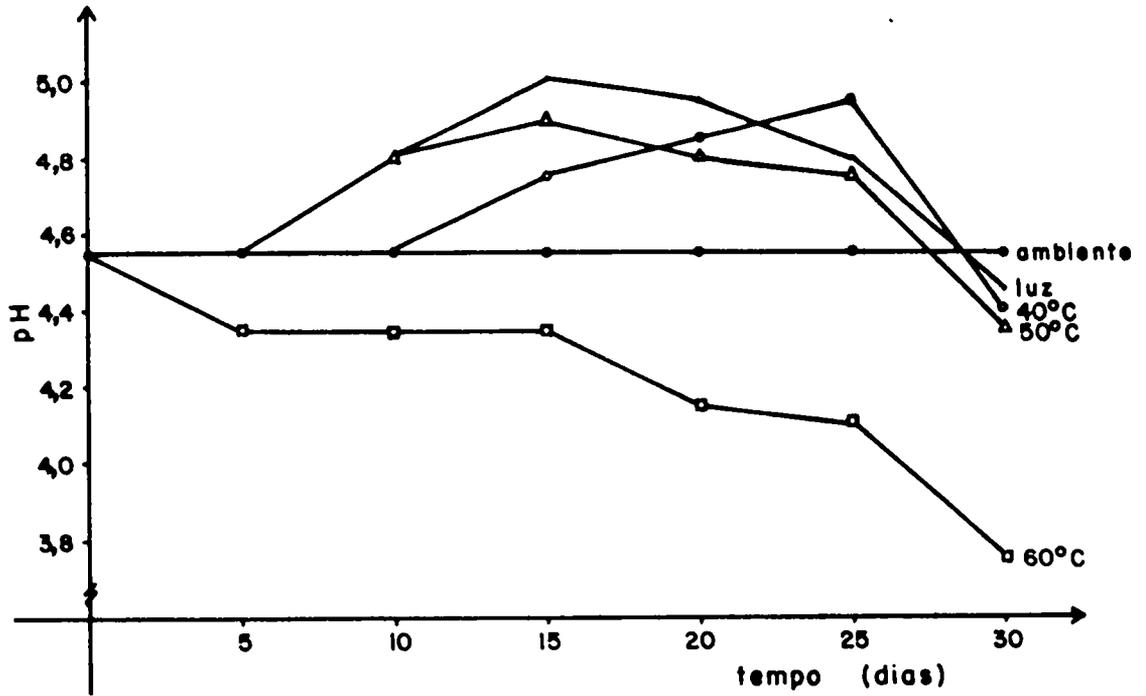


Figura 17- Representação da variação do pH nas amostras estocadas durante os ensaios de decomposição térmica e fotoquímica.

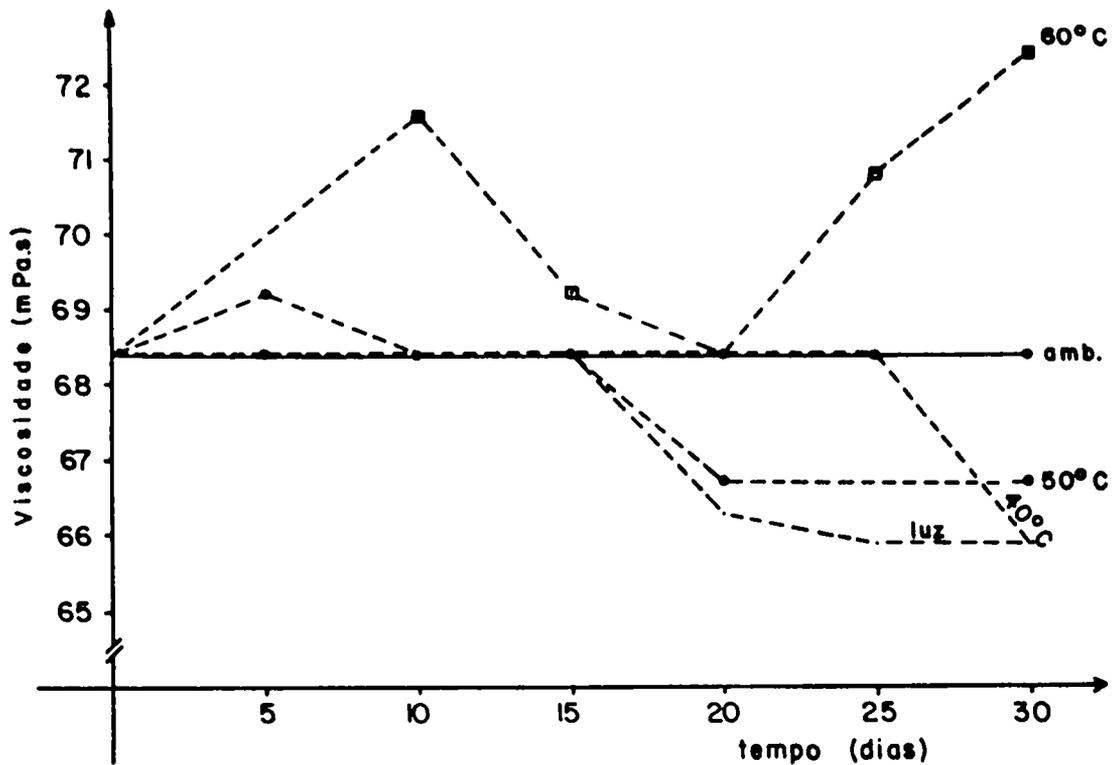


Figura 18- Representação da variação da viscosidade nas amostras estocadas durante os ensaios de decomposição térmica e fotoquímica.

TESTE DE DISSOLUÇÃO "IN VITRO"

A cinética de dissolução é a prova mais característica para correlacionar o ensaio "in vitro" com a biodisponibilidade pois, permite avaliar num determinado tempo, a quantidade de princípio ativo liberada pela forma farmacêutica. O ensaio foi realizado em aparelho de célula de fluxo e os resultados encontram-se relacionados no quadro 8 e ilustrados na figura 19.

TEMPO (minutos)	LIBERAÇÃO (mg)	LIBERAÇÃO MÉDIA (mg)	Σ LIBERAÇÃO MÉDIA	LIBERAÇÃO (%)	LIBERAÇÃO MÉDIA (%)	Σ LIBERAÇÃO MÉDIA
10	30,99 28,04 29,53	29,52 ± 1,48	29,52	24,792 22,432 23,624	23,62 ± 1,18	23,62
20	36,60 34,87 35,11	34,86 ± 1,75	64,38	29,280 27,896 26,488	27,89 ± 1,40	51,51
30	23,46 22,36 21,23	22,35 ± 1,12	86,73	18,768 17,888 16,984	17,88 ± 0,90	69,39
40	14,30 12,93 13,63	13,62 ± 0,69	100,35	11,440 10,344 10,904	10,90 ± 0,55	80,29
50	5,23 5,48 4,95	5,22 ± 0,27	105,57	4,184 4,384 3,960	4,18 ± 0,22	84,47
60	4,07 3,85 4,26	4,06 ± 0,21	109,63	3,256 3,080 3,408	3,25 ± 0,17	87,82
80	4,20 4,15 3,80	4,05 ± 0,22	113,68	3,360 3,320 3,040	3,24 ± 0,18	90,96
100	3,53 3,38 3,20	3,37 ± 0,17	117,05	2,824 2,704 2,560	2,70 ± 0,14	93,66
120	2,12 2,25 2,35	2,24 ± 0,10	119,29	1,696 1,800 1,880	1,79 ± 0,08	95,45
150	1,77 1,84 1,67	1,76 ± 0,09	121,05	1,416 1,472 1,336	1,41 ± 0,07	96,86
180	0,80 0,75 0,82	0,79 ± 0,04	121,84	0,640 0,600 0,656	0,63 ± 0,03	97,49

Quadro 8 - Resultados do teste de dissolução "in vitro" da Suspensão de Cefalexina monoidratada a 2,5%.

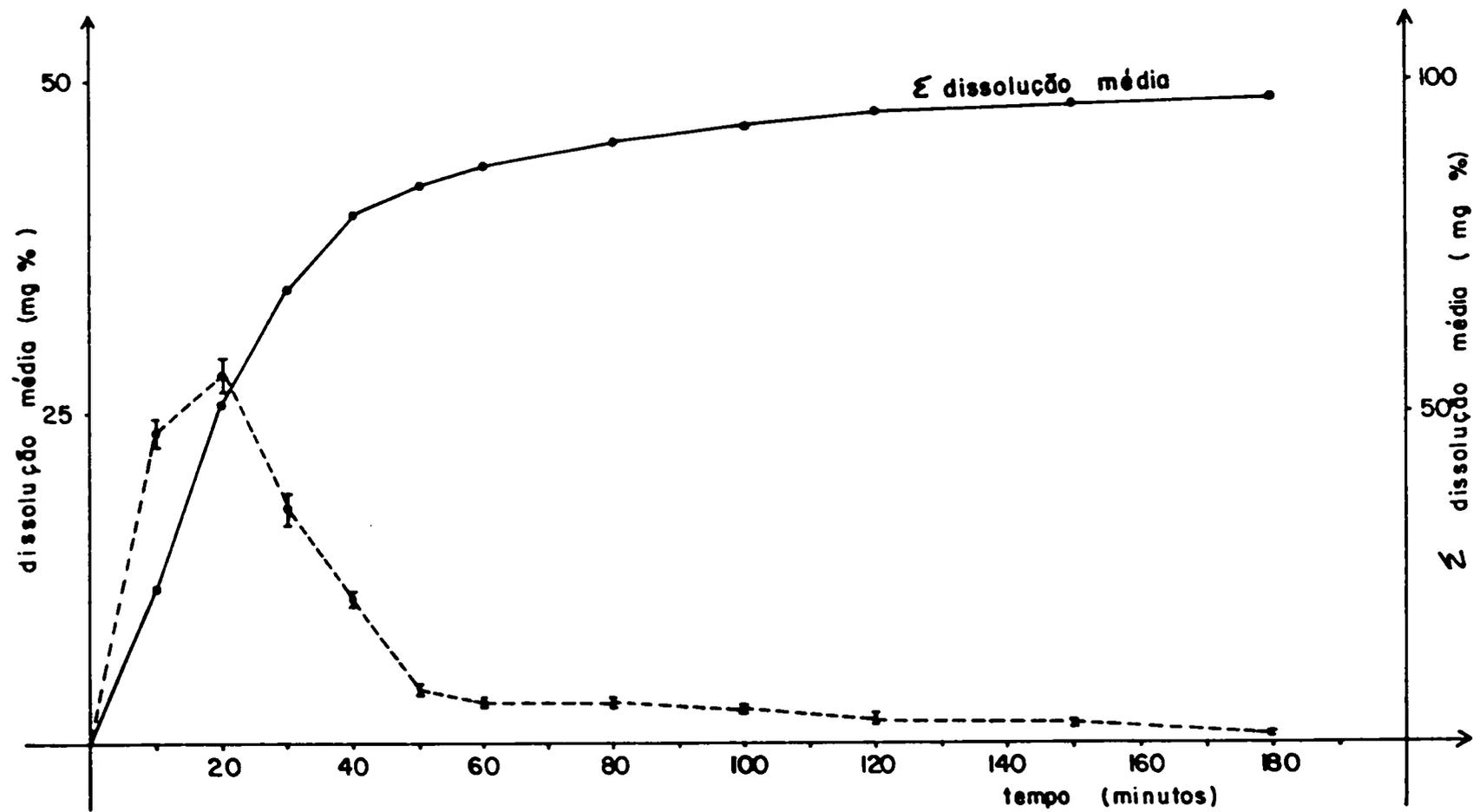


Figura 19- Representação gráfica da cinética de dissolução da Suspensão de Cefalexina monoidratada a 2,5%

ENSAIOS BIOLÓGICOS

DISPONIBILIDADE BIOLÓGICA

O soro dos animais que receberam a Suspensão de Cefalexina monoidratada, na dose de 25 mg/kg, coletado nos vários tempos, foi avaliado em sua atividade antibiótica. Os resultados foram plotados em gráfico, relacionando-se a quantidade de princípio ativo absorvido ($\mu\text{g/ml}$) em função do tempo de corrido em minutos, após a administração da suspensão. Os valores obtidos são resultado da média aritmética da determinação em cinco animais, estando ilustrados na figura 20.

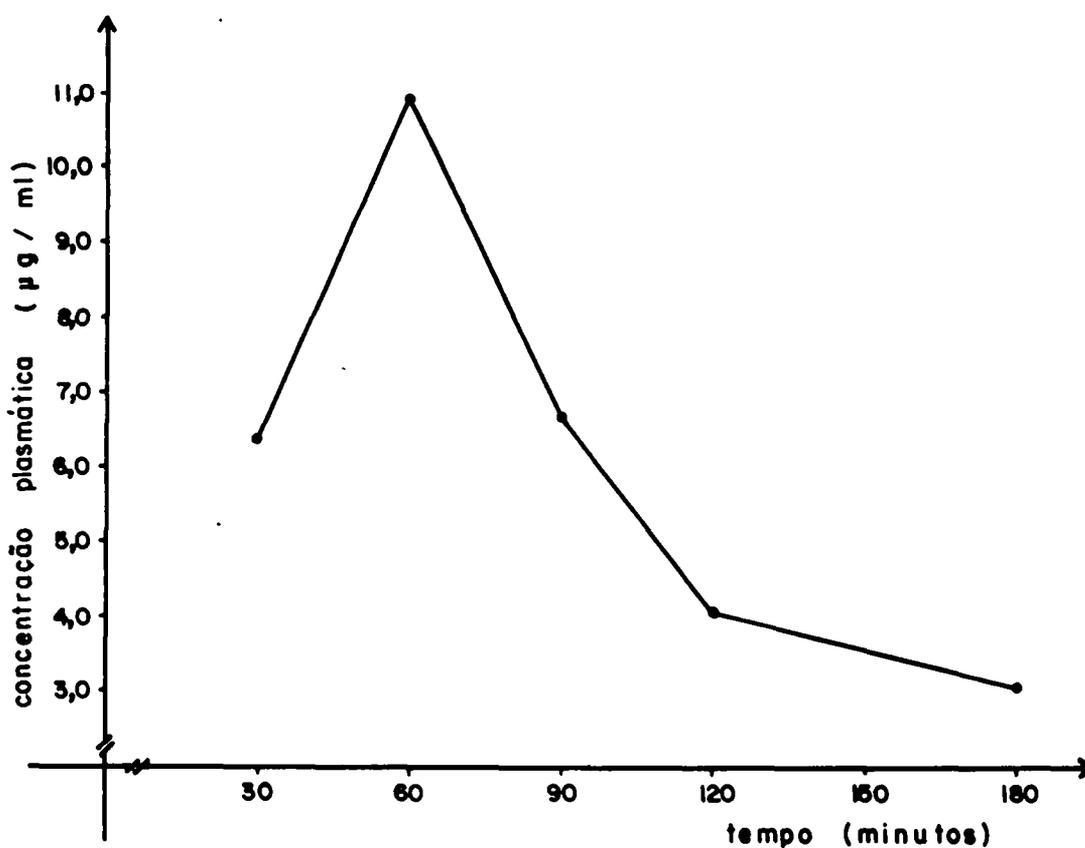


Figura 20- Representação gráfica da biodisponibilidade da Suspensão de Cefalexina monoidratada a 2,5%, administrada via oral em ratos.

TOXICIDADE

Nenhum dos animais submetidos às administrações endovenosas da solução aquosa extrativa da Suspensão de Cefalexina monodratada, morreu no período de 72 horas em que foram observados.

Esses resultados foram obtidos conforme a interpretação do teste de Toxidez Anormal, inscrito na Farmacopéia Brasileira (31).

DISCUSSÃO

PADRONIZAÇÃO DA MATÉRIA PRIMA

TESTES DE IDENTIFICAÇÃO

A identificação da Cefalexina monoidratada, realizada de acordo com os testes químicos indicados pelos códigos oficiais (11, 31), desenvolveu as reações descritas nas monografias. O espectro de absorção no ultravioleta foi concordante com o do padrão da Cefalexina monoidratada, apresentando λ max. a 262 nm confirmando, portanto, a identificação do princípio ativo.

DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE

O resultado obtido para a umidade, 6%, encontra-se dentro dos parâmetros aceitáveis pelos códigos oficiais (de 4 a 8%), assegurando, dessa forma, a boa qualidade da substância.

ANÁLISE GRANULOMÉTRICA

Levando-se em consideração a melhor eficiência de absorção gastrointestinal quando o grau de divisão das partículas é aumentado, procurou-se utilizar a Cefalexina monoidratada micropulverizada.

A esse respeito, TRAISNEL & MERLE (101) observam que o grau de micronização de um pó é um importante fator que condiciona a disponibilidade biológica. De acordo com PRISTA (86), os fármacos micronizados mostram apreciável energia de superfície, apresentando maior velocidade de dissolução, o que explica sua melhor biodisponibilidade.

Segundo CASADIO (14) um pó micronizado é constituído de partículas cujos diâmetros variam entre 0,5 e 10 micra, o que corresponde a uma área superficial de 6 a $12 \cdot 10^4$ cm²/g. Dos re

sultados da análise granulométrica observa-se que 86,5% das partículas, na alíquota analisada, enquadram-se nesses parâmetros, 92,85% possuem diâmetro menor que 14 micra e que todas são menores que 21 micra. Considerando-se, ainda, que para o número de partículas analisadas o método oferece um rigor aproximado de 9% (86) e que apenas um pequeno percentual das partículas encontram-se à margem do limite considerado, pode-se sugerir que os resultados apresentados são suficientes para assegurar a eficiência terapêutica do medicamento.

DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA:

A literatura mostra vários métodos destinados a estimar a concentração da Cefalexina monoidratada.

Certos códigos oficiais preconizam a utilização do método iodométrico (11, 102) e espectrofotométrico direto (102).

MAYS e col. (69) utilizaram a reação das cefalosporinas com o reagente hidroxilamina contendo níquel II, resultando o ácido hidroxâmico, que forma complexos com os íons férricos.

Outro método espectrofotométrico, proposto por CSIBA & CZÉH (23), consiste na condensação dos derivados do ácido cefalosporânico com acetilacetona e formaldeído à temperatura ambiente.

ALICINO (4) propôs o uso do reagente N-bromossuccinimida para a titulação iodométrica das penicilinas e cefalosporinas. GRIME & TAN (47) utilizaram o método de titulação direta, baseado na oxidação com solução de iodato. Mais recentemente, KAMINSKI & BODOS (55) desenvolveram um método de determinação para penicilinas e cefalosporinas usando 3-bromo-4,4-dimetil-2-oxazolidiona.

Outros métodos viáveis são a espectrofluorimetria de INDE

LICATO e col. (51) e de FABREGAS & BENEYTO (29), as técnicas colorimétricas de MATOUSOVA & PETERKOVA (67) e de CHUNG & JO (17), os métodos utilizando cromatografia líquida de alta eficiência desenvolvidos por CROMBEZ e col. (20) e MASON & TRANTER (66) e a polarografia de FOOG e col. (35).

Métodos específicos para o doseamento da Cefalexina em fluidos biológicos são a espectrofluorimetria de CSIBA & GRABER (24) e a cromatografia líquida de alta eficiência de TAKAGISHI e col. (97).

MAGNEM e col. (63) desenvolveram um método combinado de cromatografia em camada delgada e espectrofotometria, para eliminar os possíveis erros da espectrofotometria direta.

Levando-se em conta que no estudo da estabilidade a determinação das concentrações seria complementada pela avaliação das respectivas atividades antibiótica, optou-se pela escolha da espectrofotometria direta (102).

Esse método mostrou-se eficaz, tanto para a avaliação da matéria prima como para o produto acabado, obedecendo adequadamente a lei de Lambert-Beer (54), nas concentrações utilizadas, conforme pode ser verificado na figura 6 e, mostrando ótima reprodutividade durante os testes de decomposição térmica e fotoquímica. A viabilidade de seu emprego foi confirmada pelos resultados paralelos obtidos frente ao método microbiológico dos cilindros em placa, mesmo nas condições de maior degradação do produto (Quadros 3, 4 e 5).

O método microbiológico dos cilindros em placa, inscrito na Farmacopéia Internacional (30) e na Farmacopéia Americana (102), recomendado para a determinação da potência do antibiótico em questão, utiliza como microrganismo teste o *Staphylococcus aureus*. BOND e col. (9) preconizam o método dos cilindros em placa, utilizando a *Sarcina lutea* ou *Bacillus subtilis*.

Autores como SCHNEIDER e col. (91), MILLER (70) e ORSOLINI (80), preferem a utilização da *Sarcina lutea*, enquanto que CHOW e col. (16), DANIELI & MONTRONI (25), FINKELSTEIN e col. (33) e KAVANAGH (56) utilizam o *Bacillus subtilis*.

A esse respeito, é conveniente referenciar que um teste prévio conduzido com o *Bacillus subtilis* e *Sarcina lutea*, empregando concentrações de 10, 20 e 40 µg/ml do antibiótico, demonstrou a maior sensibilidade do segundo microrganismo. Quanto ao *Staphylococcus aureus*, achou-se inoportuno trabalhar com microrganismos patogênicos, uma vez que se utilizou câmara de fluxo laminar horizontal na preparação das placas. A escolha recaiu sobre o *Bacillus subtilis* pois, além de apresentar melhor visualização dos halos de inibição, esse adequava-se perfeitamente às concentrações pretendidas para o ensaio do antibiótico.

Desse modo, optou-se pela utilização do método adaptado com o *Bacillus subtilis*, respeitando-se, também, a indicação dos meios de cultura para o microrganismo nos códigos oficiais (102). Os resultados indicam o êxito da metodologia empregada.

MEIO DISPERSANTE E SUAS CONSTANTES FÍSICAS

ESCOLHA DO MEIO DISPERSANTE:

É fato comprovado a instabilidade dos antibióticos beta-lactâmicos em meio aquoso (12, 50, 52, 63, 105).

Para contornar o problema, tem-se preparado formas farmacêuticas líquidas (xaropes e suspensões) extemporâneas que, porém, apresentam o inconveniente de manter sua estabilidade por curto espaço de tempo (7 dias à temperatura ambiente), após reconstituição (9, 52).

Por outro lado, a reconstituição da suspensão, pelo paciente, é um processo pouco confiável, visto que, a quase totalida

de das Suspensões de Cefalexina monoidratada disponíveis no mercado não são acompanhadas dos respectivos líquidos de re constituição e, qualquer erro, poderia causar discrepâncias nas dosagens, comprometendo, dessa forma, a eficácia terapêutica do antibiótico.

Paralelamente, tem-se procurado desenvolver suspensores de natureza lipofílica, estudar as características reológicas de suspensões farmacêuticas oleosas (61), bem como verificar o comportamento de certos analgésicos e antibióticos em suspensões contendo Óleo mineral como dispersante (21, 22).

Entretanto, o Óleo mineral, quando utilizado por via oral por tempo prolongado, pode interferir com a absorção das vitas lipossolúveis, assim como causar reações granulomatosas se absorvido pelo intestino delgado (65). Essa substância é indigerível e, no trato intestinal, amolece e lubrifica o bolo fecal, atuando, portanto, como laxante suave de ação mecânica. Entretanto, o efeito só se faz presente se a dose utilizada for relativamente alta, ou seja, de 15 a 45 ml uma ou duas vezes ao dia (88, 65). Casos de pneumonia lipóide, pelo uso de parafina líquida em gotas nasais, soluções spray ou por inalação do óleo pela boca, foram relatados (65).

Em vista do que foi exposto e, considerando que a forma farmacêutica é destinada ao uso oral em terapias não prolongadas e que o volume a ser ingerido, cerca de 5ml (equivalente a 125 mg do antibiótico), encontra-se muito aquém da dose laxativa, optou-se pela preparação de uma suspensão definitiva, utilizando Óleo mineral como meio dispersante.

De acordo com os resultados obtidos para a densidade e viscosidade, o Óleo mineral empregado na preparação encontra-se dentro das especificações da Farmacopéia Americana (102).

DESENVOLVIMENTO DA FORMA FARMACÊUTICA

ESTUDO DAS PRÉ-FORMULAÇÕES:

O método de extração empregado visa, primordialmente, o isolamento da Cefalexina monoidratada dos outros componentes da formulação, excetuando-se a Sacarose, pelo fato dessa não interferir na avaliação espectrofotométrica ou microbiológica. Em testes prévios, comprovou-se que a extração com água, seguida de lavagem com Clorofórmio, era o caminho mais indicado, pois a diluição da suspensão em Clorofórmio, com posterior centrifugação ou filtração, não eliminava totalmente os outros componentes, causando erros na dosagem.

A aplicação de métodos cromatográficos confirma o êxito da metodologia empregada (figura 8).

No que diz respeito às incompatibilidades entre os componentes das pré-fórmulas, o estudo (quadro 1) revelou uma queda significativa no teor do princípio ativo, quando se utilizou a Sacarina base ou Óleo de menta, acentuando-se pela associação de ambos, respectivamente, edulcorante e aromatizante (pré-fórmulas 3 a 6). Isso indica que a Sacarina base e/ou o Óleo de menta catalizam a decomposição térmica da Cefalexina monoidratada.

Por outro lado, modificações organolépticas também se fizeram presentes sempre que a Sacarina base ou ambos os componentes encontravam-se associados ao floculante e ao princípio ativo. Essas alterações devem-se, provavelmente, à interação conjunta do edulcorante/floculante/princípio ativo ou edulcorante/aromatizante/floculante/princípio ativo (pré-fórmulas 3 e 4), visto que nos outros casos, mantiveram-se os caracteres organolépticos (pré-fórmulas de 1 a 11).

Da análise dos resultados das pré-fórmulas de 12 a 16, constatou-se que o problema poderia ser solucionado com a subs

tituição da Sacarina base pela Sacarose pulverizada, e do Óleo de menta por Óleo essencial de frutas cítricas (limão, laranja ou tangerina).

Assim, tendo-se em vista as observações descritas e, que não se pretendia incluir corantes na preparação, optou-se, tam bém por motivos estéticos, pela utilização da pré-formulação 16 do quadro 1, que emprega o Óleo de limão associado com a Saca rose pulverizada.

Um dos processos utilizados para a flocculação de suspen sões é o do emprego de substâncias tensioativas (7, 89).

Alguns detergentes, tanto iônicos como não iônicos, têm sido empregados como agentes flocculantes (49).

NASH & HAEGER (75) empregaram tensioativos não iônicos, as sociados com eletrólito, para diminuir o potencial-zeta e pro vocar a flocculação de suspensões.

Segundo ARANCIBIA (7) e RIGAMONTI & RUGGIMENTI (89), pode -se utilizar tensioativos aniônicos para floccular partículas positivas, e tensioativos catiônicos, como o Cloreto de benzal cônio ou Cloreto de cetilpiridínio para floccular partículas ne gativas. A explicação decorre do fato que o tensioativo, pos suindo carga contrária a das partículas, produz diminuição do potencial-zeta, favorecendo, dessa maneira, a flocculação.

As cefalosporinas, sendo antibióticos de caráter ácido, consoante sua carga elétrica comportam-se como ânions, sendo pas síveis, portanto, de serem flocculadas com tensioativos catiôni cos.

Segundo HIESTAND (49), quando um sólido hidrófilo é dis persado num óleo, uma mínima quantidade de água é adsorvida em cada partícula. No momento em que duas partículas se tocam, o filme líquido concentra-se entre elas formando uma ponte líqui da. Nossos resultados demonstram tal possibilidade. As fotomi

crografias apresentadas na figura 10 ilustram o fato.

Em testes prévios foram verificadas as ações flocculantes do Cloreto de benzalcônio e do Cloreto de cetilpiridínio frente a Cefalexina monoidratada, tendo-se observado melhor eficiência do segundo tensioativo, razão que levou ao seu emprego nas pré-fórmulas.

Verificou-se que a ação flocculante do Cloreto de cetilpiridínio é diretamente proporcional à sua concentração até um máximo de 0,3911 mMol % seguindo-se, a partir desse ponto, inversamente proporcional até o limite das concentrações testadas (figura 11).

Evidentemente nossos estudos não forneceram subsídios suficientes para explicar o mecanismo pelo qual ocorre tal fenômeno, pois isso exigiria estudos mais aprofundados, o que nos desviaria completamente do objetivo principal do trabalho. Entretanto, na prática, observou-se que inicialmente ocorria uma coagulação geral, provavelmente por atração partícula/partícula (49), iniciando-se a seguir a sedimentação.

As velocidades médias de sedimentação comportam-se inversamente proporcionais à concentração do flocculante até o máximo de 0,3911 mMol %, seguindo-se diretamente proporcionais nos limites das concentrações testadas (quadro 2).

Na formulação final, optou-se por uma concentração de flocculante (0,2793 mMol%) que, além de eficiente, oferecesse completa segurança quanto ao ponto de inversão de carga.

PREPARAÇÃO DA FORMA FARMACÊUTICA:

A formulação desenvolvida apresentou adequadas possibilidades quanto à tecnologia de preparação empregada.

DECOMPOSIÇÃO FOTOQUÍMICA ACELERADA

Os resultados das concentrações percentuais, bem como aqueles apresentados para as atividades antibiótica das amostras estudadas, demonstram a boa estabilidade da suspensão à luz solar simulada, quando acondicionada em frascos âmbar.

As constantes de velocidade de decomposição foram da ordem de $2,27 \times 10^{-3} \text{ dia}^{-1}$ e $2,35 \times 10^{-3} \text{ dia}^{-1}$, obtidas, respectivamente, pelo método espectrofotométrico e microbiológico, e demonstram a eficiência desses métodos de avaliação, já que os valores são bastante próximos.

A análise do tratamento gráfico (figura 12) a que foram submetidos os resultados obtidos, por ambos os métodos de avaliação quantitativa, bem como as respectivas equações das retas, indicam que o antibiótico sofre decomposição segundo uma reação de cinética de primeira ordem.

DEGRADAÇÃO TÉRMICA ACELERADA

A avaliação da concentração percentual da Cefalexina monohidratada nas amostras submetidas à decomposição térmica acelerada, mostrou uma queda de 4,04, 6,62 e de 19,69% no final de 30 dias de exposição, respectivamente, às temperaturas de 40°C , 50°C e 60°C , demonstrando que no último caso a catálise térmica é muito mais acentuada. O mesmo efeito catalítico pode ser observado, comparando-se as constantes de velocidade de decomposição obtidas, respectivamente, para cada uma das temperaturas experimentais, que são da ordem de $8,21 \times 10^{-4} \text{ dia}^{-1}$, $2,1 \times 10^{-3} \text{ dia}^{-1}$ e $7,28 \times 10^{-3} \text{ dia}^{-1}$.

As mesmas amostras, submetidas à decomposição térmica acelerada, também foram avaliadas quanto à sua potência antibiótica, constatando-se uma queda da ordem de 4,57, 9,98 e 20,11% e, verificando-se a mesma eficiência catalítica da temperatura

que aquela observada para as concentrações percentuais. As constantes de velocidade de decomposição, da ordem de $9,36 \times 10^{-4} \text{ dia}^{-1}$, $2,0 \times 10^{-3} \text{ dia}^{-1}$ e $7,47 \times 10^{-3} \text{ dia}^{-1}$ também demonstram a mesma tendência.

Independente do método de avaliação a decomposição térmica a 50°C e decomposição fotoquímica, apresentaram constantes de velocidade de degradação de mesma grandeza indicando, nesse caso, equivalência de efeito catalítico.

Comparando-se os dados resultantes dos dois métodos de avaliação quantitativa, não se verificaram diferenças significativas que possam comprometer os processos de extração e de avaliação quantitativa do antibiótico. O incremento, praticamente insignificante, no valor das constantes de velocidade de decomposição, observado no caso das atividades percentuais, deve-se, provavelmente, a produtos de degradação que, sem atividade antibiótica, absorvam radiações no ultravioleta e que não tenham sido totalmente eliminados durante a extração do antibiótico. Embora nenhuma substância estranha tenha sido detectada na análise cromatográfica da solução-mãe, que foi submetida à determinação espectrofotométrica (figura 8), produtos de degradação em concentrações não detectáveis cromatograficamente, podem ocasionar essas pequenas diferenças, devido a grande sensibilidade da espectrofotometria.

O tratamento gráfico para o cálculo do tempo de vida útil da suspensão, apresentado nas figuras 15 e 16, baseado no método de AMIRJAHED (6), onde se relaciona o logaritmo de t_{10} com o inverso das temperaturas absolutas a que foram submetidas as amostras e extrapolando-se para a temperatura ambiente (25°C), mostrou um período de vida útil de 776 dias (cerca de 26 meses) frente ao método espectrofotométrico e de 708 dias (cerca de 24 meses) frente ao método microbiológico. Esses valores foram verificados considerando-se o teor inicial de princípio ativo

referente a 100%. Todavia, a Farmacopéia Americana (102) sugere para a Suspensão de Cefalexina monoidratada, uma faixa de 90 a 120% do valor rotulado, propiciando aumentar sensivelmente esse prazo de validade, caso o produto seja preparado em sobredosagem, dentro desses limites.

VERIFICAÇÃO DA REDISPERSIBILIDADE, COLORAÇÃO, pH E VISCOSIDADE

As determinações de pH, para as amostras submetidas à de composição fotoquímica, bem como para aquelas estocadas a 50°C no teste de decomposição térmica (figura 17) mostraram-se estáveis até o 5º dia, após o que apresentaram um aumento gradual até o 15º dia de estocagem, seguido de uma queda até valores pouco abaixo daqueles correspondentes aos das amostras mantidas em temperatura ambiente. As amostras estocadas a 40°C seguiram o mesmo curso, mantendo o valor do pH estável até o 10º dia, após o que houve um aumento crescente até o 25º dia, seguido de uma queda brusca até valores semelhantes aos anteriores. As amostras mantidas a 60°C exibiram uma característica particular, apresentando uma queda já no 5º dia, mantendo-se aparentemente estáveis até o 15º dia de armazenagem, seguido de queda constante até valores bem inferiores àqueles observados nos outros casos.

A formação de produtos de degradação que se mantêm estáveis durante determinado tempo, decompondo-se a seguir, em outros sub-produtos, pode explicar as alterações do pH, nos casos da degradação frente à luz e às temperaturas de 40 e 50°C. No caso das amostras mantidas a 60°C, é provável que os produtos de degradação iniciais não se mantêm estáveis, devido à forte catálise térmica, decompondo-se logo após sua formação, ocasionando queda subsequente de pH (figura 17).

As variações da viscosidade ocorrem, provavelmente, pela

solubilização de produtos de decomposição no meio dispersante, uma vez que em amostras do Óleo mineral mantidas nas mesmas condições, não se observou tais variações. Mantiveram-se as características observadas para o pH, ou seja, ocorreram alterações paralelas nos casos da degradação à luz e às temperaturas de 40 e 50°C, enquanto que a 60°C verificou-se a mesma característica isolada. Esse comportamento era de se esperar, em razão da semelhança de grandeza observada nas constantes de velocidade de decomposição, para a degradação fotoquímica e para as temperaturas de 40 e 50°C e, do valor particularmente superior dessa constante, verificado para a temperatura de 60°C.

Esses dados constituem subsídios suficientes para se estabelecer uma correlação entre a decomposição do princípio ativo, através das constantes de velocidade de degradação, e as alterações detectadas na viscosidade e pH (figuras 17 e 18).

Analisando-se os resultados apresentados nos quadros 6 e 7, verifica-se uma correlação íntima entre as características de redispersibilidade e de cor, pois, nas amostras mantidas a 50 e 60°C no teste de degradação acelerada, observa-se que o aparecimento de coloração é seguido, em ambos os casos, pelo comprometimento da redispersão. Em vista desses fatos, supõe-se que o surgimento de coloração esteja relacionado com a decomposição do flocculante.

TESTE DE DISSOLUÇÃO "IN VITRO" E ENSAIOS BIOLÓGICOS

A presença de um fármaco na circulação sanguínea, após sua administração por via diferente da endovenosa, envolve os processos de liberação do princípio ativo da forma farmacêutica, com posterior dissolução, e o transporte através das membranas biológicas (92).

De acordo com a lei de NOYES (101), a velocidade de absor

ção de uma substância, contida numa forma farmacêutica, é função de sua velocidade de dissolução (figuras 19, 20 e 21).

Por outro lado, sabe-se que a cedência de um princípio ativo é dependente da forma farmacêutica em que ele está contido, GIBALDI (43) afirma que essa cedência decresce na seguinte ordem:

SOLUÇÃO - SUSPENSÃO - CÁPSULAS - COMPRIMIDOS - DRÁGEAS.

Através do estudo da dissolução "*in vitro*" é possível avaliar o comportamento de determinada formulação, considerando ser ela a etapa determinante do processo de absorção "*in vivo*" (84, 101). Entretanto, somente testes experimentais "*in vivo*" poderão definir os parâmetros finais.

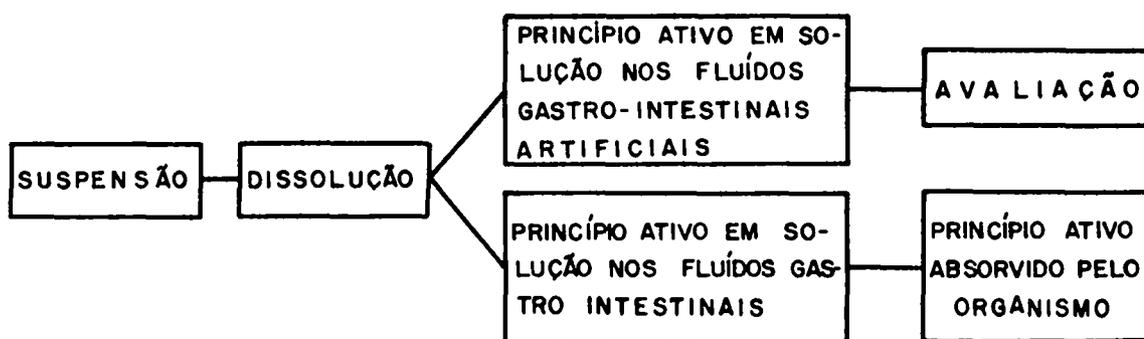


Figura 21- Esquema da cinética de dissolução e absorção.

Dentro desses propósitos, a formulação objeto deste estudo, foi submetida aos testes de dissolução "*in vitro*", na tentativa de se estabelecer parâmetros aplicáveis aos experimentos "*in vivo*".

O conceito de biodisponibilidade fundamenta-se, principalmente, na avaliação de parâmetros específicos como os níveis plasmáticos.

A disponibilidade biológica, realizada em ratos, apresentou um pico de absorção máxima na primeira hora após a administração.

tração da suspensão por via oral (figura 20), resultado semelhante aos obtidos por FINKELSTEIN e col. (32, 33), BOND e col. (9), WALKER e col. (103) e OCLANDER (79) em humanos.

Os dados obtidos no ensaio de biodisponibilidade mostram correlação com o teste de dissolução "*in vitro*". A comparação desses resultados demonstra que a maior percentagem do antibiótico (cerca de 85%) foi liberada, encontrando-se em dissolução nos fluidos gastrointestinais simulados, em tempo hábil para que se desse o pico de absorção máxima "*in vivo*" no tempo em que se configurou (1 hora).

KISHI e col. (58) correlacionaram o teste de dissolução "*in vitro*" com a absorção ou excreção da Cefalexina em humanos, concluindo que esse experimento é um método confiável para a avaliação biológica da Cefalexina "*in vitro*".

Esses resultados comprovam, ainda, a adequabilidade da micronização da matéria prima, avaliada através da análise granulométrica, para que a absorção ocorresse em níveis ideais.

Finalmente, os resultados obtidos no ensaio de toxicidade, demonstram que o produto mantém-se atóxico, mesmo em seu estado de maior degradação.

CONCLUSÕES

1 - A tecnologia empregada na preparação da forma farmacêutica mostrou-se plenamente adequada.

2 - A metodologia de extração do princípio ativo comprovou ser eficiente.

3 - Os métodos espectrofotométrico e microbiológico mostraram-se adequados para a avaliação quantitativa tanto da matéria prima como do produto acabado.

4 - Os resultados obtidos nos ensaios de decomposição térmica e fotoquímica sugerem que a degradação do princípio ativo ocorre segundo uma reação de cinética de primeira ordem.

5 - Os valores das constantes de velocidade de decomposição demonstram a boa estabilidade térmica e fotoquímica da Cefalexina monoidratada na suspensão proposta.

6 - O provável tempo de vida útil da Suspensão de Cefalexina monoidratada à temperatura ambiente, é de aproximadamente 2 anos, podendo ser sensivelmente aumentado se o princípio ativo for utilizado em sobredose, dentro dos limites farmacopêicos.

7 - Os valores do pH e da viscosidade mantêm-se dentro de níveis aceitáveis, mesmo após as amostras serem submetidas a condições drásticas de temperatura.

8 - O comportamento do parâmetro redispersibilidade demonstra a boa estabilidade física do produto acabado.

9 - O teste de dissolução "*in vitro*" correlaciona-se com o ensaio de biodisponibilidade, exibindo liberação adequada para uma rápida absorção.

10- O ensaio de dissolução "*in vitro*" pode ser aplicado como método indicativo da disponibilidade biológica do produto, podendo ser utilizado na definição dos parâmetros tecnológicos durante a produção.

11- A disponibilidade biológica do produto apresentou valores apropriados para a resposta terapêutica.

12- A solução aquosa extrativa mantém-se atóxica, mesmo nas amostras com maior grau de decomposição.

13- O acondicionamento da suspensão em frascos âmbar normais é suficiente para a manutenção da qualidade do produto acabado.

14- Conclui-se, finalmente, em função dos resultados obtidos, que o produto final apresenta amplas possibilidades de produção industrial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- ABRAHAM, E.P. The cephalosporins. Pharmacol. Rev., 14:473-500, 1962.
- 2- ABRAHAM, E.P. The chemistry of new antibiotics. Am.J.Med., 39: 692-707, 1965.
- 3- ABRAHAM, E.P. Reflections on the development of the cephalosporins. G.ital.Chemioter., 17(1/4): 4-13, 1970.
- 4- ALICINO, J.F. N-bromosuccinimide assay of penicillins and cephalosporins. J.pharm.Sci., 65: 300-01, 1976.
- 5- AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION, Chicago. Drug evaluations . Chicago, 1980, p. 1229-33, 1243.
- 6- AMIRJAHED, A.K. Simplified method to study stability of pharmaceutical preparations. J. pharm. Sci., 66:785-89 , 1977.
- 7- ARANCIBIA, A. Considerations on the formulation of pharmaceutical suspensions. Farmaco Ed.Prat., 26:721-52, 1971.
- 8- BEVAN, J.A. et alii. Fundamentos de farmacologia. São Paulo, Harper, 1979, p. 394-98.
- 9- BOND, C.M. et alii. Cephalexin: a new oral broad-spectrum antibiotic. Pharm.J., 205(22): 210-14, 1970.
- 10- BONDI, J.V. et alii. Effect of adsorbed surfactant on particle-particle interactions in hydrophobic suspensions . J.pharm.Sci., 62: 1731-33, 1973.
- 11- BRITISH pharmacopoeia. Cambridge, University Press, 1980. v.1, p. 86-7.
- 12- BUNDGAARD, H. Isolation and characterization of cephalexin degradation products formed in neutral aqueous solution. Arch.pharm.Chem.Sci.Ed., 5: 149-55, 1977.

- 13- CARSTENSEN, J.T. Sedimentation kinetics of flocculated suspension. III. Effect of zeta potential. J.pharm. Sci., 61: 1999-2000, 1972.
- 14- CASADIO, S. Tecnologia farmaceutica. 2.ed., Milano, Cisalpino-Goliardica, 1972, v. 1.
- 15- CEPHALEXIN. Drug Ther.Bull., 8(27): 17-8, 1970.
- 16- CHOW, M. et alii. Pharmacokinetics of high-dose oral cephalosporins. J.clin.Pharmacol., 19:185-94, 1979.
- 17- CHUNG, J.N. & JO, J.H. A study on the colorimetric determination of drugs with molybdato-phosphoric acid. 1. Determination of cephalexin. Chungang Uihak, 36:75-7, 1979.
- 18- CONINE, J.W. et alii. A comparison of the stability of commercial cephradine and cephalexin capsules. Curr.ther. Res., 24: 967-79, 1978.
- 19- CORBETT, C.E. Farmacodinâmica dos antibióticos. In: ——— Farmacodinâmica. 5.ed., Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan, 1977, p. 798-839.
- 20- CROMBEZ, E. et alii. Application of thin layer and high performance liquid chromatography to the separation and determination of cephalexin in cephradine, in bulk powder and in pharmaceuticals. Chromatographia. 11: 653-57, 1978.
- 21- CROMMELIN, D.J.A. In vitro release studies of drugs suspended in nonpolar media. Release of sodium chloride. Paracetamol and chloramphenicol from suspensions in liquid paraffin. Pharm.Weekbl., 115: 745-48, 1980.
- 22- CROMMELIN, D.J.A. & De BLAEY, C.J. In vitro release studies of drugs suspended in nonpolar media. Part 2. Release of paracetamol and chloramphenicol from suspensions in liquid paraffin. Int.J.Pharm., 6(7): 29-42, 1980.

- 23- CSIBA, A. & CZECH, M.I. Spectrophotometric determination of cephalosporanic acid and penicillanic acid derivatives, containing the primary aminogroup, as their dihydrolutidine derivate. Acta pharm.hung., 49: 68-74, 1979.
- 24- CSIBA, A. & GRABER, H. Spectrofluorometric determination of the antibiotics cephacetrile and cephalexin in biological fluids. Acta pharm.hung., 48: 10-18, 1978.
- 25- DANIELI, G. & MONTRONI, M. Primi risultati sull'impiego di una nuova cefalosporina per via orale. G.ital.Chemioter., 17(1/4): 65-69, 1970.
- 26- DEMONTY, J. Results in cephalosporin and aminoglycoside antibiotic therapy. Rev.Med.Liege, 34: 6-12, 1979.
- 27- ECANOW, B. et alii. Flocculation and coagulation. Am. J. Hosp.Pharm., 23:404, 1966.
- 28- ECANOW, B. et alii. Newer aspects of suspension theory. Amer.Perfum.Cosmet., 84(11): 27-30, 1969.
- 29- FABREGAS, J.L. & BENEYTO, J.E. Direct spectrofluorimetric determination of the free amino group of cephalexin in its lysine salt. Analyst, 105(1253): 813-16, 1980.
- 30- FARMACOPEA internacional. 3.ed., Ginebra, Organizacion Mundial de la Salud, 1980. v. 1, p.157-63, 197-99, 206-07.
- 31- FARMACOPEIA brasileira. 3.ed. São Paulo, Andrei, 1977. p. 195, 933.
- 32- FINKELSTEIN, E.R. et alii. Pharmacokinetics of oral cephalosporins. J.Pediatr., 93: 902, 1974.
- 33- FINKELSTEIN, E. et alii. Pharmacokinetics of oral cephalosporins: cephradine and cephalexin. J.pharm.Sci., 67:1447-50, 1978.

- 23- CSIBA, A. & CZECH, M.I. Spectrophotometric determination of cephalosporanic acid and penicillanic acid derivatives, containing the primary aminogroup, as their dihydrolutidine derivate. Acta pharm.hung., 49: 68-74, 1979.
- 24- CSIBA, A. & GRABER, H. Spectrofluorometric determination of the antibiotics cephacetrile and cephalexin in biological fluids. Acta pharm.hung., 48: 10-18, 1978.
- 25- DANIELI, G. & MONTRONI, M. Primi risultati sull'impiego di una nuova cefalosporina per via orale. G.ital.Chemioter., 17(1/4): 65-69, 1970.
- 26- DEMONTY, J. Results in cephalosporin and aminoglycoside antibiotic therapy. Rev.Med.Liege, 34: 6-12, 1979.
- 27- ECANOW, B. et alii. Flocculation and coagulation. Am. J. Hosp.Pharm., 23:404, 1966.
- 28- ECANOW, B. et alii. Newer aspects of suspension theory. Amer.Perfum.Cosmet., 84(11): 27-30, 1969.
- 29- FABREGAS, J.L. & BENEYTO, J.E. Direct spectrofluorimetric determination of the free amino group of cephalexin in its lysine salt. Analyst, 105(1253): 813-16, 1980.
- 30- FARMACOPEA internacional. 3.ed., Ginebra, Organizacion Mundial de la Salud, 1980. v. 1, p.157-63, 197-99, 206-07.
- 31- FARMACOPEIA brasileira. 3.ed. São Paulo, Andrei, 1977. p. 195, 933.
- 32- FINKELSTEIN, E.R. et alii. Pharmacokinetics of oral cephalosporins. J.Pediatr., 93: 902, 1974.
- 33- FINKELSTEIN, E. et alii. Pharmacokinetics of oral cephalosporins: cephradine and cephalexin. J.pharm.Sci., 67:1447-50, 1978.

- 34- FINLAND, M. Oral and parenteral cephalosporins: the place of cephalexin in antibacterial therapy. Drugs, 3 (1/2): 1-8, 1972.
- 35- FOGG, A.G. et alii. Differential pulse polarographic determination of cephalexin after hydrolysis in neutral phosphate buffer. J.Pharm.Pharmacol., 32:302-03, 1980.
- 36- FORNASARI, R. Prime esperienze cliniche sull'impiego della cefalosporina orale (cephalexin) in campo urologico. G.ital.Chemioter., 17(1/4): 70-73, 1970.
- 37- GARRET, E.R. & CARPER, R.F. Prediction of stability in pharmaceutical preparations. I. Color stability in a liquid multisulfa preparation. J.Am.Pharm.Assoc.Sci.Ed., 44: 515-18, 1955.
- 38- GARRET, E.R. Prediction of stability in pharmaceutical preparations. II. Vitamin stability in liquid multivitamin preparations. J.Am.Pharm.Assoc.Sci.Ed., 45: 171-78, 1956.
- 39- GARRET, E.R. Prediction of stability in pharmaceutical preparations. III. Comparison of vitamin stabilities in different multivitamin preparations. J.Am.Pharm.Assoc. Sci. Ed., 45: 470-73, 1956.
- 40- GARRET, E.R. Prediction of stability in pharmaceutical preparations. IV. The interdependence of solubility and rate in saturated solutions of acylsalicylates. J.Am.Pharm. Assoc.Sci.Ed., 46: 584-86, 1957.
- 41- GARRET, E.R. Prediction of stability in pharmaceutical preparations. V. The solution degradation of the antibiotic streptovaricin. J.Am.Pharm.Assoc.Sci.Ed., 48: 169-76, 1959.
- 42- GARRET, E.R. Prediction of stability of drugs and pharmaceutical preparations. J.pharm.Sci., 51: 811-31, 1962.

- 43- GIBALDI, M. Biopharmaceutics-therapeutics implications. Hosp.Formul.Manage., 1: 23, 1966.
- 44- GIUSTI, D.L. Cephalosporins. Drug Intell.Clin.Pharm., 7: 252-62, 1973.
- 45- GOTH, A. Farmacologia médica. 6.ed., Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan, 1975, p. 538-65.
- 46- GRIFFITH, R.S. & BLACK, H.R. Concentrações dos antibióticos cefalosporínicos no sangue, na urina e nos tecidos de pessoas normais. Rev.Assoc.Med.Bras., 18(3): 11-16, 1972.
- 47- GRIME, J.K. & TAN, B. Direct titrations of antibiotics with iodate solutions. Part 2. Some selected cephalosporins. Anal.chim.Acta., 105: 369-74, 1979.
- 48- GROVE, D.C. & RANDALL, W.A. Assay methods of antibiotics. New York, Medical Encyclopedia, 1955. p. 7-33.
- 49- HIESTAND, E.N. Theory of coarse suspension formulation. J.pharm.Sci., 53: 1-18, 1964.
- 50- HOU, J.P. & POOLE, J.W. β -lactam antibiotics: their physicochemical properties and biological activities in relation to structure. J.pharm.Sci., 60: 503-32, 1971.
- 51- INDELICATO, J.M. et alii. 2-hidroxi-3-aryl-6-methylpyrazines-fluorophores formed from the reaction of formaldehyde with cyclic enamine degradation products common to β -lactam antibiotics with aryl glycine side chains. J.Pharm.Pharmacol., 33: 119-21, 1981.
- 52- INOUE, Y. et alii. Stability of cephalexin for syrup. J.Nippon Hosp.Pharm.Assoc.Sci.Ed., 6: 103-09, 1980.
- 53- JEFFERY, J.D'A. et alii. Deacetylcephalosporin C. Biochem.J., 81: 591-96, 1961.

- 54- KAHRS, K.H. A espectroscopia em ultravioleta. Porto Alegre, Curso de Pós-Graduação. Faculdade de Farmácia.U.F.R.G.S., 1974 (apostila).
- 55- KAMINSK, J.J. & BODOS, N. Determination of penicillins and cephalosporins using 3-bromo-4,4-dimethyl-2-oxazolidinone. Int.J.Pharm., 3: 151-56, 1979.
- 56- KAVANAGH, F. Microbiological diffusion assay. 2. Design and applications. J.pharm.Sci., 64: 1224-29, 1975.
- 57- KAYES, J.B. Pharmaceutical suspensions: relation between zeta-potential, sedimentation volume and stability. J. Pharm.Pharmacol., 29: 199-204, 1977.
- 58- KISHI, H. et alii. Urinary excretion of cephalixin after oral administration of commercial capsules and microbioassay of cephalixin in human urine. Yakuzaigaku. 38: 87-94, 1978.
- 59- KOROLKOVAS, A. Antibióticos. Aspectos gerais e estudo dos beta-lactâmicos. Rev.bras.Clin.Terap., 11: 87-132, 1982.
- 60- LACHMAN, L. & LUCA, P. Kinetic principles and stability testing. In: LACHMAN, L. et alii. The theory and practice of industrial pharmacy. 2.ed., Philadelphia, Lea & Febiger, 1976, p. 32-77.
- 61- LESSHAFFT, C.T.J. Rheological evaluation of lipophilic suspending agents. I. Dimetyl dialkyl amonium hectorite. J. pharm.Sci., 55: 1371-78, 1966.
- 62- LODER, B. et alii. The cephalosporin C nucleus (7-amino-cephalosporanic acid) and some its derivatives. Biochem.J., 79: 408-16, 1961.
- 63- MAGNEM, T.M. et alii. Stability test analysis of cephalixin. Medd.Nor.Farm.Selsk , 39: 221-26, 1977.

- 64- MARTIN, A.N. Physical chemical approach to the formulation of pharmaceutical suspensions. J.pharm.Sci., 50: 513-17, 1961.
- 65- MARTINDALE: the extra pharmacopoeia. 27.ed., London, Pharmaceutical Press, 1978. p. 1095-97.
- 66- MASON, B. & TRANTER, J. Use of high performance liquid chromatography for the determination of cephalixin. Anal. Proc., 18(7): 310-13, 1981.
- 67- MATOUSOVA, O. & PETERKOVA, M. Spectrophotometric determination of cephalixin. Cesk.Farm., 28(9/10): 382-83, 1979.
- 68- MATTHEWS, B.A. & RHODES, C.T. Aggregation mechanisms in pharmaceutical suspensions. J.pharm.Sci., 59: 1360-62, 1970.
- 69- MAYS, D.L. et alii. Hydroxylamine determination of cephalosporins. Anal.Chem., 47: 2229-34, 1975.
- 70- MILLER, R.P. A paper chromatographic assay for cephalosporins. Antibiot. & Chemoth., 12: 689-93, 1962.
- 71- MORGADO, L.R. et alii. Ensaio de decomposição acelerada. IV. Avaliação da estabilidade de soluções açucaradas de salicilato de colina. An.Fac.Farm.Porto, 27:5-14, 1967.
- 72- MORIN, R.B. et alii. Chemistry of cephalosporin antibiotics. I. 7-aminocephalosporanic acid from cephalosporin C. J.Am.Chem.Soc., 84: 3400, 1962.
- 73- MUNTONI, S. Farmacologia clinica delle cefalosporine. G.ital.Chemioter., 17(1/4): 14-32, 1970.
- 74- MURRAY, B.E. & MOELLERING, R.C. Cephalosporins and cephamycin antibiotics: status report. Clin.Ther., 2: 155-79, 1979.

- 75- NASH, R. & HAEGER, B.C. Zeta potential in the development of pharmaceutical suspensions. J.pharm.Sci., 55: 829-37, 1966.
- 76- THE NATIONAL formulary. 15.ed. Rockville, Md., United States Pharmacopeial Convention, 1980. p. 1233-34.
- 77- NEWTON, G.G.F. & ABRAHAM, E.P. Cephalosporin C, a new antibiotic containing sulphur and D- α -amino-adipic acid. Nature, 175: 548, 1955.
- 78- NEWTON, G.G.F. & ABRAHAM, E.P. Isolation of cephalosporin C, a penicillin-like antibiotic containing D- α -aminoadipic acid. Biochem.J., 62: 651-58, 1956.
- 79- OCLANDER, G. Monoidrato de cefalexina no tratamento das infecções bacterianas em pediatria. Rev.Assoc.Med.Bras., 18(3): 25-30, 1972.
- 80- ORSOLINI, P. Concentracioni seiriche e tessutali del cephalexin nell'uomo. G.ital.Chemioter., 17(1/4): 53-57, 1970.
- 81- PAGE, J. et alii. Tratamento das infecções do tecido subcutâneo com a cefalexina. Rev.Assoc.Med.Bras., 18(3): 31-3, 1972.
- 82- PARROT, E.L. Pharmaceutical technology. Minneapolis, Burgess Publishing, 1970.
- 83- PFEIFFER, R.R. et alii. Crystal pseudopolymorphism of cephaloglycin and cephalixin. J.pharm.Sci., 59: 1809-14, 1970.
- 84- POOLE, J.W. Some experiences in the evaluation of formulation variables on drug availability. Drug Info.Bull., 1: 8-16, 1969.
- 85- PRIETO, J.G. & SALTO, F. Catalytic effects of the buffer TRIS on the degradation of several deacetoxy cephalosporins. An.Fac.Vet.Leon, 23(1): 17-27, 1977.

- 86- PRISTA, L.N. & ALVES, A.C. Técnica farmacêutica e farmácia galênica. 2.ed., Lisboa, Calouste-Gulbenkian, 1975, v.1.
- 87- PRISTA, L.N. et alii. Ensaio de decomposição acelerada. II. Nota sobre a avaliação da estabilidade de penicilinas semi-sintéticas. Rev.Port.Farm., 14: 397-412, 1964.
- 88- REMINGTON'S pharmaceutical sciences. 16.ed., Easton, Mack Publ., 1980, p. 1128-30.
- 89- RIGAMONTI, S. & RUGGINENT, G. Pharmaceutical suspensions. Farmaco Ed. Prat., 24: 445-89, 1969.
- 90- RYAN, C.W. et alii. Chemistry of cephalosporin antibiotics. XIII. Desacetoxycephalosporins. The synthesis of cephalexin and some analogs. J.med.Chem., 12: 310-13, 1969.
- 91- SCHNEIDER, H. Evaluation of an oral prolonged-release antibiotic formulation. J.pharm.Sci., 67: 1620-22, 1978.
- 92- SERTIÉ, J.A.A. Formas farmacêuticas, controle de qualidade e biodisponibilidade. In: ZANINI, A.C. & OGA, S. Farmacologia aplicada. São Paulo, Ed. Universidade São Paulo, 1979, p. 15-25.
- 93- SILVA, A.R. et alii. Ensaio de decomposição acelerada. III. Avaliação da estabilidade de uma suspensão aquosa de ácido acetilsalicílico. Rev.Port.Farm., 15: 283-89, 1965.
- 94- SIMON, C. et alii. Pharmacokinetics of cephalexin in adults and children. Deut.Med.Wochschr., 95: 2103-08, 1970.
- 95- SPEIGHT, T.M. et alii. Cephalexin: a review of its antibacterial, pharmacological and therapeutic properties. Drugs, 3(1/2): 9-78, 1972.
- 96- SULLIVAN, H.R. et alii. Metabolism of cephalexin-¹⁴C in mice and in rats. J.Antibiot., 22: 195-200, 1969.

- 97- TAKAGISHI, Y. et alii. High performance liquid chromatographic assay of cephalixin in biological fluid. Yakugaku Zasshi, 101: 843-47, 1981.
- 98- TINGSTAD, J. & SHAMI, E. Simplified method for determining chemical stability of drug substances in pharmaceutical suspensions. J.pharm.Sci., 62: 1361-63, 1973.
- 99- TOKIWA, F. & IMAMURA, T. Suspension stability of solid particles in the presence of various types of electrolytes. Am.Oil Chem.Soc., 46: 571-74, 1969.
- 100- TONI, L.C. Comprimidos gastrorresistentes de penicilina G benzatina. Proposta tecnológica e estudo da estabilidade. Porto Alegre, 1982, [Dissertação - Mestrado - Faculdade de Farmácia U.F.R.G.S.].
- 101- TRAISNEL, M. & MERLE, C. Particle size analysis, possibilities and limits. J.Pharm.belg., 32: 539-48, 1977.
- 102- THE UNITED STATES pharmacopeia. 20.rev. Rockville, Md., United States Pharmacopeial Convention, 1980. p.125-28 , 882-88, 1326-27.
- 103- WALKER, A.N. et alii. Fresh drugs for old problems. Br.J. clin.Pract., 25: 59-64, 1971.
- 104- WEINSTEIN, L. & KAPLAN, K. The cephalosporins: microbiological, chemical and pharmacological properties and use in chemotherapy of infection. Ann.int.Med., 72: 729- 39, 1970.
- 105- YAMANA, T. & TSUJI, A. Comparative stability of cephalosporins in aqueous solutions: kinetics and mechanism of degradation. J.pharm.Sci., 65: 1563-74, 1976.
- 106- YASUHARA, M. et alii. Catalytic effect of cationic surfactants on degradation of cephalixin in aqueous solution. J.Pharm.Pharmacol., 29: 638-40, 1977.

AGRADECIMENTOS

- Ao Professor Doutor *Pedro Ros Petrovick* e Professora Doutora *Flávia Ohlweiler da Silveira*, pela orientação, confiança e amizade constantes.

- À minha esposa, Farmacêutica *Maria Virginia* e a meus filhos *Leonardo, Nicolai* e *Mariana*, um agradecimento muito especial, pelo carinho constante, incentivo e confiança.

- À Professora Doutora *Elfrides Eva Scherman Schapoval*, pelas sugestões e valioso auxílio na área de controle de qualidade químico e biológico.

- À Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara da Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", na pessoa do Professor Dr. *Antonio Longo*.

- À Professora Doutora *Maria Aparecida Pourchet Campos*, a quem devo minha iniciação na carreira docente.

- Aos companheiros das Disciplinas de *Farmacotécnica e Tecnologia Farmacêutica*, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, pelas valiosas sugestões.

- Ao Sr. *Ronal Costa*, da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela constante e dedicada ajuda na execução dos trabalhos práticos.

- À *Eli Lilly do Brasil Ltda.*, pelo fornecimento da Cefalexina Monoidratada padrão.

- À *Laborterápica Bristol Química e Farmacêutica Ltda.*, pelo fornecimento da Matéria prima.

- À Secretária do Departamento de Fármacos e Medicamentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Srta. *Elizabeth Modolo*, pela presteza e eficiência.

- À Sra. *Maria Estela Moralis Caramori*, Bibliotecária da Seção de Biblioteca e Documentação UNESP-Campus de Araraquara, pela organização das referências bibliográficas.

- Aos *amigos e colegas* pela amizade e estímulo, e a todos que alguma participação tiveram na execução do presente trabalho.