



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ALINE BARRIQUELLO ROSA

**DESENVOLVIMENTO DE COMPRIMIDO PALATÁVEL DE
CEFALEXINA PARA ANIMAIS DE PEQUENO PORTE**

ALINE BARRIQUELLO ROSA

**DESENVOLVIMENTO DE COMPRIMIDO PALATÁVEL DE
CEFALEXINA PARA ANIMAIS DE PEQUENO PORTE**

Dissertação apresentada como requisito parcial
à obtenção de grau de Mestre, ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do
Centro de Ciências da Saúde da Universidade
Estadual de Londrina
– UEL.

Orientador: Profa. Dra. Marcela Maria Baracat.

Londrina
2020

**Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração
Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL**

R788d Rosa, Aline Barriquello.

Desenvolvimento de Comprimido Palatável de Cefalexina para Animais de Pequeno Porte / Aline Barriquello Rosa. - Londrina, 2021.

98 f.

Orientador: Marcela Maria Baracat.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2021.

Inclui bibliografia.

1. Cefalexina - Tese. 2. Eudragit® E PO Eudragit® RS - Tese. 3. Comprimido - Tese. 4. Palatabilizante - Tese. I. Baracat, Marcela Maria. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. III. Título.

CDU 61

ALINE BARRIQUELLO ROSA

DESENVOLVIMENTO DE COMPRIMIDO PALATÁVEL DE CEFALEXINA PARA ANIMAIS DE PEQUENO PORTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof^a. Dra. Marcela Maria Baracat.
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dra. Rúbia Casagrande
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dra. Daniela Cristina de Medeiros Araújo
Centro Universitário Ingá- UNINGÁ

Londrina, 05 de fevereiro de 2021.

DEDICATÓRIA

A minha família, minha motivação diária.

AGRADECIMENTOS

A Deus e Maria Santíssima por me escolher e me capacitar, mesmo diante das minhas imperfeições, por acolher minhas orações e adorações com tanto carinho e cuidado, nos piores e melhores dias.

Aos meus pais e minha irmã, por toda dedicação, amor, apoio e por incentivarem sempre a busca pela sabedoria e conhecimento.

Aos amigos por serem presentes e me motivarem sempre a perseverar.

Ao meu marido por todo companheirismo, dedicação, por me ajudar no equilíbrio da rotina com mais leveza e por compartilhar dos meus sonhos.

A minha orientadora Prof^ª. Dra. Marcela M. Baracat, por acreditar no meu objetivo e ser minha guia na realização desse trabalho, me inspirando e ensinando.

A minha companheira de estudos e doutoranda Jéssica Bassetto, sem sua ajuda e conhecimento, não seria possível finalizar mais este ciclo.

Aos colaboradores e técnicos dos laboratórios LM, CEPPOS, LMEM e ESPEC, por todo auxílio e análises contidas neste trabalho.

Aos meus gestores e a Novartis, pela flexibilidade e incentivo na busca do desenvolvimento profissional e acadêmico.

A todos os professores da Universidade Estadual de Londrina e Centro Universitário Filadélfia, que contribuíram com a minha trajetória.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

Marthin Luther King

ROSA, Aline. **Desenvolvimento de comprimido palatável de cefalexina para animais de pequeno porte.** 2020. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

RESUMO

O processo de medicação em animais de estimação, é descrito como o mais desafiador por seus tutores. Estressados e fragilizados pelas doenças alguns animais demonstram comportamento agressivo, outros ainda rejeitam o medicamento e recusam o tratamento devido ao sabor desagradável do comprimido, comprometendo a eficácia do protocolo dedicado a recuperação do animal. Os antibióticos cefalosporínicos são bactericidas com baixa toxicidade e amplamente empregados em tratamentos de infecções de pele, de tecidos moles e ossos, respiratórias, do trato urinário, bem como profilaxia em pré e pós-procedimentos cirúrgicos. A cefalexina é amplamente indicada à tratamentos veterinários de pequeno porte, porém, o sabor desagradável da substância ativa é a principal limitação à administração do medicamento via oral. Uma solução para esse problema é a prevenção da aproximação entre o insumo farmacêutico ativo (IFA) com sabor desagradável e as papilas gustativas do animal com uso de polímeros, além de optar pela adição de palatabilizantes para mascarar o sabor e tornar o medicamento mais atrativo. Sob este contexto, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de comprimidos palatáveis destinados à animais de pequeno porte com o revestimento da cefalexina por polímeros Eudragit® RS e Eudragit® E PO e adição de palatabilizante sabor carne, com intuito de promover a aceitabilidade do animal ao medicamento e adesão ao tratamento. A granulação da cefalexina foi padronizada utilizando solução etanólica de Eudragit® RS e Eudragit® E PO 90% de polímero e obtenção de comprimidos com peso médio de 180mg \pm 7,5% a partir dos granulados, que apresentaram eficácia de revestimento da cefalexina em 80,42% com Eudragit® E PO e 76,06% com Eudragit® RS. A partir do resultado de teor dos comprimidos foi possível expressar a boa performance do processo produtivo dos lotes, tanto para a formulação com Eudragit® RS (96,73%) quanto para Eudragit® EPO (97,79%), tendo em vista a baixa variação de conteúdo dos comprimidos analisados apresentando DPR de 0,36 e 0,28. Com relação a liberação de cefalexina, tanto a formulação com Eudragit® E PO, quanto a formulação com Eudragit® RS apresentaram máxima concentração e queda na liberação logo após os primeiros 15 minutos de ensaio, independente do meio de dissolução. Os 15 minutos iniciais, com coletas realizadas a cada 2 minutos, a formulação com Eudragit® E PO mostrou ser adequada para testes futuros, já que o fármaco foi liberado lentamente, sugerindo que nesse período o fármaco tenha passado pela cavidade bucal, não despertando o sabor desagradável da cefalexina.

Palavras-chave: cefalexina; eudragit® EPO; eudragit® RS; comprimido. palatabilizante.

ROSA, Aline. **Development of cephalixin tasteable tablet for small animals.** 2020. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

ABSTRACT

The process of medication in pets is described as the most challenging by their tutors. Stressed and weakened by diseases, some animals show aggressive behavior, others still reject the medication and refuse treatment due to the unpleasant taste of the tablet, compromising the effectiveness of the protocol dedicated to the recovery of the animal. Cephalosporin antibiotics are bactericidal with low toxicity and widely used in treatments for infections of skin, soft tissues and bones, respiratory tract, urinary tract, as well as prophylaxis in pre and post-surgical procedures. Cephalixin is widely indicated for small veterinary treatments, however, the unpleasant taste of the active substance is the main limitation to the administration of the medication orally. A solution to this problem is the prevention of the approximation between the active pharmaceutical ingredient (API) with an unpleasant taste and the animal's taste buds with the use of polymers, besides to opting for the addition of palatabilizers to mask the flavor and make the medicine more attractive. In this context, this work aimed to develop palatable tablets intended for small animals with the cephalixin coating by polymers Eudragit® RS and Eudragit® E PO and addition of meat flavor palatabilizer, in order to promote the acceptability of the animal medication and adherence to the treatment. The granulation of cephalixin was standardized using ethanolic solution of Eudragit® RS and Eudragit® E PO 90% polymer and obtaining tablets with an average weight of $180\text{mg} \pm 7.5\%$ from the granules, which showed efficacy of cephalixin coating in 80, 42% with Eudragit® E PO and 76.06% with Eudragit® RS. From the result of the content of the tablets it was possible to express the good performance of the production process of the batches, both for the formulation with Eudragit® RS (96.73%) and for Eudragit® EPO (97.79%), in view of the low variation in the content of the analyzed tablets with a DPR of 0.36 and 0.26. Regarding the release of cephalixin, both formulations, with Eudragit® E PO and with Eudragit® RS, showed maximum concentration and drop in release just after the first 15 minutes of testing, regardless of the dissolution medium. The initial 15 minutes, with collections performed every 2 minutes, the formulation with Eudragit® E PO proved to be suitable for future tests, since the drug was released slowly, suggesting that in this period the drug had passed through the oral cavity, not awakening the unpleasant taste of cephalixin.

Key-words: cephalixin; eudragit® EPO; eudragit® RS; tablets; flavoring.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Estrutura química da Cefalexina.	21
Figura 2 -	Estrutura química do Eudragit e as variações na cadeia.....	23
Figura 3 -	Representação básica do processo de compressão.	29
Figura 4 -	Diagrama de dispersão construído com a média das áreas obtidas por CLAE em relação a concentração do preparo.....	50
Figura 5 -	Teste de equivalência entre a média da exatidão encontrada frente ao valor alvo de 100%.	54
Figura 6 -	Cromatograma referente a solução padrão de cefalexina (A), solução amostra de cefalexina (B), injeção de água (C), fase móvel (D), Eudragit® E PO (E), solução de Eudragit® RS (F) e placebo com os componentes da fórmula do produto final (G).	56
Figura 7 -	Espectro de cefalexina caracterizada por Infravermelho.....	59
Figura 8 -	Espectro de Eudragit® E PO caracterizada por Infravermelho.....	60
Figura 9 -	Espectro de infravermelho de grânulo de cefalexina revestida com Eudragit® E PO sobreposta por espectro de Eudragit® E PO puro.....	60
Figura 10 -	Espectro de infravermelho de grânulo de cefalexina revestida com Eudragit® E PO sobreposta por espectro de cefalexina pura.....	61
Figura 11 -	Espectro de infravermelho de Eudragit® RS.....	62
Figura 12 -	Espectro de infravermelho de grânulo de cefalexina revestida com Eudragit® RS sobreposta por espectro de Eudragit® RS puro.....	62
Figura 13 -	Espectro de infravermelho de grânulo de cefalexina revestida com Eudragit® RS sobreposta por espectro de cefalexina pura.....	63
Figura 14 -	Análises de calorimetria exploratória diferencial de cefalexina (A), Eudradit® E PO (B) e de grânulo de cefalexina revestida com Eudradit® E PO (C)	65
Figura 15 -	Análises de calorimetria exploratória diferencial sobrepostas de cefalexina pura, grânulos de cefalaxina revestida com Eudragit® E PO e Eudragit® E PO puro	66
Figura 16 -	Análises de calorimetria exploratória diferencial do Eudragit®	

	RS (A) e de grânulo de cefalexina revestida com Eudragit® RS (B).	67
Figura 17	- Análises de calorimetria exploratória diferencial sobrepostas de cefalexina pura, grânulos de cefalexina revestida com Eudragit® RS e Eudragit® RS puro.....	68
Figura 18	- Fotomicrografia por MEV cefalexina, aumento de (A) 200, (B) 1500, (C) 6000 e (D) 24000 vezes.	69
Figura 19	- Fotomicrografia por MEV de Eudragit® E PO, aumento de (A) 200, (B) 1500, (C) 6000 e (D) 24000 vezes.....	70
Figura 20	- Fotomicrografia por MEV de Eudragit® RS, aumento de (A) 200, (B) 1500, (C) 6000 e (D) 24000 vezes.....	71
Figura 21	- Fotomicrografia por MEV de grânulo de cefalexina revestida com Eudragit® E PO, aumento de (A) 200, (B) 1500, (C) 6000 e (D) 24000 vezes.	72
Figura 22	- Fotomicrografia por MEV de grânulo de cefalexina revestido com Eudragit® RS, aumento de (A) 200, (B) 1500, (C) 6000 e (D) 24000 vezes.	73
Figura 23	- Fotomicrografia por MEV de grânulos de cefalexina revestida com Eudragit® E PO (A) e Eudragit® RS (B) com aumento de 24000 vezes.....	74
Figura 24	- Representação de protonação na molécula de cefalexina.	82
Figura 25	- Perfil de dissolução em (A) água e (B) mucosa artificial de comprimido de cefalexina palatável formulado com grânulos revestidos com Eudragit® RS e Eudragit® E PO em porcentagem de fármaco liberado durante 8h de ensaio	84
Figura 26	- Perfil de dissolução em (A) água e (B) mucosa artificial do comprimido de cefalexina palatável formulado com grânulos revestidos com Eudragit® RS e Eudragit® E PO durante os primeiros 15 minutos de ensaio.....	85
Figura 27	- Perfil de dissolução em HCl 0,1M do comprimido de cefalexina palatável formulado com grânulos revestidos com Eudragit® RS e Eudragit® E PO em 2h de ensaio.	89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	-	Revestimento e quantificação de grânulos de cefalexina.	33
Tabela 2	-	Preparo de amostras para o ensaio de linearidade da cefalexina	37
Tabela 3	-	Quantidade de grânulo pesado para preparação das amostras em concentrações de 80, 85 e 90%.	39
Tabela 4	-	Amostras analisadas em CLAE, divididas por polímero de revestimento, concentração e uso de ultrassom.	40
Tabela 5	-	Formulação de comprimidos com granulado de cefalexina revestido com Eudragit® RS ou Eudragit® EPO e placebo.	43
Tabela 6	-	Avaliação da adequação do sistema e avaliação de eficiência de coluna cromatográfica.	48
Tabela 7	-	Concentração de cefalexina utilizada no ensaio de linearidade, áreas obtidas e médias das áreas.....	49
Tabela 8	-	Avaliação da repetibilidade da quantificação da cefalexina por CLAE utilizando 0,075mg/mL do fármaco.	52
Tabela 9	-	Avaliação da precisão intermediária da quantificação da cefalexina por CLAE utilizando 0,075mg/mL do fármaco.	53
Tabela 10	-	Valor de concentração teórica e o valor de concentração conhecida do analito para o teste de exatidão.	54
Tabela 11	-	Teor de cefalexina dos grânulos de revestidos com Eudragit® EPO.....	57
Tabela 12	-	Teor cefalexina dos grânulos revestidos com Eudragit® RS.....	58
Tabela 13	-	Teor cefalexina dos grânulos revestidos com Eudragit® EPO e Eudragit® RS na concentração de 90%.....	58
Tabela 14	-	Peso médio referente a dez tempos (T) de amostragem de comprimidos produzidos utilizando grânulos de cefalexina revestida com Eudragit®EPO.	75
Tabela 15	-	Peso médio referente a dez tempos (T) de amostragem de comprimidos produzidos utilizando grânulos de cefalexina revestida com Eudragit® RS.....	76
Tabela 16	-	Dureza referente a dez tempos (T) de amostragem de comprimidos produzidos utilizando grânulos de cefalexina revestidos com Eudragit®EPO.	77

Tabela 19 - Dureza referente a dez tempos (T) de amostragem de comprimidos produzidos utilizando grânulos de cefalexina revestida com Eudragit® RS.....	78
Tabela 18 - Friabilidade para dez tempos (T) de amostragem de comprimidos formulados com Eudragit® RS.....	79
Tabela 19 - Friabilidade para dez tempos (T) de amostragem de comprimidos formulados com Eudragit® EPO.	80
Tabela 20 - Teor para o comprimido produzido com grânulos de cefalexina revestidos com Eudragit® RS, analisados em triplicata.	80
Tabela 21 - Teor para o comprimido produzido com grânulos de cefalexina revestida com Eudragit® E PO, analisados em triplicata.	81
Tabela 22 - Perfil de liberação dos revestimentos em água e mucosa artificial em 8 horas de experimento.....	84
Tabela 23 - Perfil de liberação dos revestimentos em água e mucosa artificial até 15 minutos de experimento.....	87

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CMLP	Central Multiusuária de Laboratórios
DP	Desvio Padrão
DPR	Desvio Padrão Relativo
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
ESPEC	Laboratório de Espectroscopia
FTIR	Infravermelho por transformada de Fourier
HCl	Ácido Hidroclorídrico
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
IFA	Insumo Farmacêutico Ativo
IPEC	Conselho Internacional de Excipientes Farmacêuticos
IR	Espectroscopia de Infravermelho
ITUs	Infecções do Trato Urinário
K'	Fator de Capacidade
KBr	Brometo de Potássio
KH ₂ PO ₄	Fosfato de Potássio Monobásico
LMEM	Laboratório de Microscopia Eletrônica e de Microanálise
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MMQO	Método dos Mínimos Quadrados Ordinários
MRSP	<i>Methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius</i>
NaCl	Cloreto de Sódio
NaH ₂ PO ₄	Fosfato de Sódio Monobásico
PA	Princípio Ativo
R ²	Coeficiente de Correlação
USP	United States Pharmacopeia

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1	CEFALEXINA	21
2.2	EUDRAGIT®	23
2.2.1	EUDRAGIT® RS	24
2.2.2	EUDRAGIT® EPO	24
2.3	PALATABILIZANTES.....	25
2.4	REVESTIMENTO DE PÓS POR GRANULAÇÃO ÚMIDA	27
2.5	COMPRIMIDOS	29
3	OBJETIVO	32
3.1	OBJETIVO GERAL.....	32
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
4	MATERIAIS E MÉTODOS	33
4.1	MATERIAIS	33
4.2	MÉTODOS	33
4.2.1	Revestimento da cefalexina pó por granulação úmida.....	33
4.2.2	Validação Analítica Parcial	34
4.2.2.1	Validação parcial de método para quantificação dos grânulos de cefalexina revestidos com Eudragit® por CLAE e determinação de teor dos comprimidos	35
4.2.2.2	Adequação do sistema.....	35
4.2.2.3	Linearidade.....	36
4.2.2.4	Precisão	37
4.2.2.5	Repetibilidade.....	37
4.2.2.6	Precisão intermediária.....	38
4.2.2.7	Exatidão	38
4.2.2.8	Seletividade.....	39
4.2.3	Quantificação da Cefalexina nos Grânulos Revestidos com Eudragit® E PO e EUDRAGIT® RSp or CLAE	39
4.2.3.1	Preparo das amostras	39

4.2.4	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	41
4.2.5	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	41
4.2.6	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	42
4.2.7	Preparação dos Comprimidos Palatáveis.....	42
4.2.8	Controle em Processo	43
4.2.8.1	Peso médio dos lotes	43
4.2.8.2	Dureza.....	44
4.2.8.3	Friabilidade.....	44
4.2.9	Determinação de Teor dos Comprimidos	44
4.2.10	Varredura	45
4.2.11	Perfil de Liberação por Espectrofotometria UV/Vis.....	45
4.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	47
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
5.1	VALIDAÇÃO PARCIAL DE MÉTODO.....	48
5.1.1	Adequação do Sistema	48
5.1.2	Linearidade.....	49
5.1.3	Precisão	52
5.1.4	Repetibilidade.....	52
5.1.5	Precisão Intermediária	53
5.1.6	Exatidão	54
5.1.7	Seletividade.....	56
5.2	QUANTIFICAÇÃO DOS GRÂNULOS DE CEFALEXINA REVESTIDOS COM EUDRAGIT® POR CLAE	58
5.3	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	59
5.4	CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)	65
5.5	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	69
5.6	CONTROLE EM PROCESSO.....	76
5.6.1	Peso Médio	76
5.6.2	Dureza.....	78
5.6.3	Friabilidade.....	80
5.7	DETERMINAÇÃO DE TEOR DOS COMPRIMIDOS	81

5.8	VARREDURA	82
5.9	PERFIL DE DISSOLUÇÃO POR ESPECTROFOTOMETRIA (UV).....	84
6	CONCLUSÃO	91
	REFERÊNCIAS	92

1 INTRODUÇÃO

A cefalexina, um antibiótico cefalosporínico, atua como bactericida pouco tóxico, (SPINOSA et al., 2015) sendo empregada para tratamento de infecções bacterianas, tanto para humanos quanto em animais, por sua eficiência em infecções de pele, tecidos moles e ossos, respiratórias, trato urinário, bem como profilaxia em pré e pós-procedimentos cirúrgicos (CLIMENI et al., 2009). Inclusa na primeira geração das cefalosporinas, a cefalexina é um antibiótico semissintético caracterizado por um pó cristalino branco e com sabor amargo (LIEW et al., 2013), o que se torna o fator limitante para a administração em animais.

Para administração de medicamento contendo fármaco com sabores desagradáveis aos animais, a formulação oral palatável é uma abordagem ideal para melhorar a captação voluntária de medicamentos pelo animal, ou seja, a aceitação do medicamento pelo animal, melhorando assim a adesão ao tratamento (THOMBRE, 2004). A utilização de polímero na formulação do medicamento é um dos métodos mais eficaz de mascaramento do sabor ao paladar, pela capacidade de formar uma barreira entre o princípio ativo de sabor desagradável e a língua do animal. A seleção do excipiente polimérico é um fator importante para garantir o mascaramento, assim, os derivados de polimetacrilatos são amplamente utilizados em formulações farmacêuticas como agentes de revestimento para esta finalidade (LOPALCO, 2020).

Eudragit® é o nome comercial de polímeros sintéticos obtidos por polimerização de ácido acrílico e ácidos metacrílicos ou seus ésteres, incluindo copolímeros aniônicos, catiônicos e neutros. Esses copolímeros exibem graus variados de solubilidade dependente e independente do pH, não apresentam absorção ou toxicidade e são dispostos comercialmente em diferentes formas físicas (dispersão aquosa, solução orgânica, grânulos e pós) (THAKRAL et al., 2012).

Eudragit® RS é um copolímero insolúvel em água e possuem grupos de amônio quaternário, presentes como sais tornando os polímeros permeáveis. Apresenta-se como uma substância sólida na forma de grânulos incolores, transparentes a turvos, com um leve odor de amina (EVONIK, 2020; KASHIF *et al.*, 2016). Por sua vez, Eudragit® E PO, tem a capacidade de formação de filmes que são intumescíveis e permeáveis, insolúveis quando em $\text{pH} \geq 5$, impedindo a liberação do fármaco diretamente na saliva ($\text{pH} 6,8 - 7,4$), se dissolvendo rapidamente em líquido gástrico ($\text{pH} 1,0 - 1,5$) (THAKRAL *et al.*, 2012).

A opção do uso do copolímero na formulação, é a prevenção da percepção de sabores desagradáveis dos fármacos, sendo eficaz no mascaramento dessa limitação ao paladar, promovendo revestimento e formando uma barreira envolta ao princípio ativo (PA) (LOPALCO *et al.*, 2020).

A aposta na palatabilidade é extremamente importante para indústrias veterinárias, alimentícias e farmacêuticas, uma vez que este quesito está associado ao prazer do animal na ingestão de alimentos, petiscos ou medicamentos. Em virtude disso, o desenvolvimento de medicamentos orais palatáveis é uma maneira eficaz de proporcionar conforto ao animal durante a terapia, pois são voluntariamente aceitas e consumidas por eles, otimizando a conveniência ao tutor e ao animal (ARAÚJO *et al.*, 2004; THOMBRE, 2004).

Assim, o desenvolvimento de um comprimido de cefalexina revestida com polímeros e adição de palatabilizantes, se faz relevante por serem voluntariamente aceito por cães e gatos, ressaltando grande impacto nas necessidades médicas, como conveniência, conformidade do animal e adesão ao tratamento.

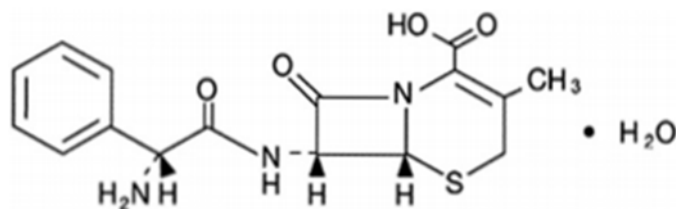
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CEFALEXINA

Inclusa na primeira geração das cefalosporinas, a cefalexina é um antibiótico semissintético caracterizado por um pó cristalino branco, com sabor amargo, solúvel em água e praticamente insolúvel em álcool, clorofórmio e éter (LIEW *et al.*, 2013).

As cefalosporinas pertencem à classe dos β - lactâmicos tendo como núcleo básico o ácido 7-amino-cefalosporânico (Figura 1). A partir do isolamento deste núcleo foram obtidos os derivados semissintéticos das cefalosporinas, atualmente comercializados. Com ação semelhante às penicilinas, são antibióticos inibidores da síntese de parede. Por ser uma estrutura indispensável para a sobrevivência do microrganismo, a interrupção de síntese da parede leva a morte celular, pois é ela a estrutura responsável por funções de sustentação, proteção e manutenção da forma da bactéria (SPINOSA *et al.*, 2006).

Figura 1: Estrutura química da Cefalexina.



Fonte: KAI *et al.*, 2014.

Os antibióticos cefalosporínicos são bactericidas pouco tóxicos (SPINOSA *et al.*, 2015) e são empregados para tratamento de infecções bacterianas, tanto para humanos quanto em animais, por sua eficiência em infecções de pele, tecidos moles e ossos, respiratórias, trato urinário, bem como profilaxia em pré e pós-procedimentos cirúrgicos (CLIMENI *et al.*, 2009).

Fungwithaya *et al.* (2017) administraram cefalexina em cães que apresentavam piodermite, onde foram avaliadas carga nasal de *Staphylococcus pseudintermedius* resistente à meticilina (MRSP) em dez animais com lesões de pele e sem nenhum tratamento prévio com quaisquer medicamentos. Após 2 meses de administração oral de cefalexina, todos os cães alcançaram a total recuperação,

apresentando pele normal sem a necessidade de terapias adicionais com antibióticos ou esteroides.

Ainda, Carvalho *et al.* (2014) relata o uso da cefalexina em infecções do trato urinário (ITUs) de cães e gatos, quando avaliada a etiologia e resistência bacteriana aos antimicrobianos. Foram classificadas a sensibilidade de bactérias causadoras da doença frente aos antimicrobianos, consideradas drogas de primeira escolha na rotina clínica para o tratamento de ITUs animal: cefalexina, sulfa+trimetoprim, amoxicilina e tetraciclina. As bactérias Gram negativas apresentaram 30,9% de resistência à cefalexina, acompanhada por 35,3% de resistência a sulfa+trimetoprim, 54,4% tetraciclina e 63,2% à amoxicilina. A cefalexina também apresentou menor índice de resistência quanto as bactérias Gram positivas, representado por 19,2%, seguido de 26,9% à amoxicilina, 46,9% de resistência a sulfa+trimetoprim e 49,9% à tetraciclina.

Além dos animais domésticos, o uso da cefalexina em lhamas foi citada por Kreil *et al.* (2016), que avaliou a farmacocinética de duas formulações diferentes de cefalexina administradas por via intravenosa, via intramuscular e subcutânea, evidenciando o uso do antibiótico também em animais ruminantes.

Para administração de medicamento contendo fármaco com sabores desagradáveis aos animais, a formulação oral palatável é uma abordagem ideal para melhorar a captação voluntária de medicamentos pelo animal, ou seja, a aceitação do medicamento pelo animal, melhorando assim a adesão ao tratamento (THOMBRE, 2004). Além disso, o proprietário pode controlar prontamente a dosagem e monitorar a administração sem estresse indevido ao animal, proporcionando conforto no momento da administração, tanto ao animal quanto ao tutor (SONG *et al.*, 2016).

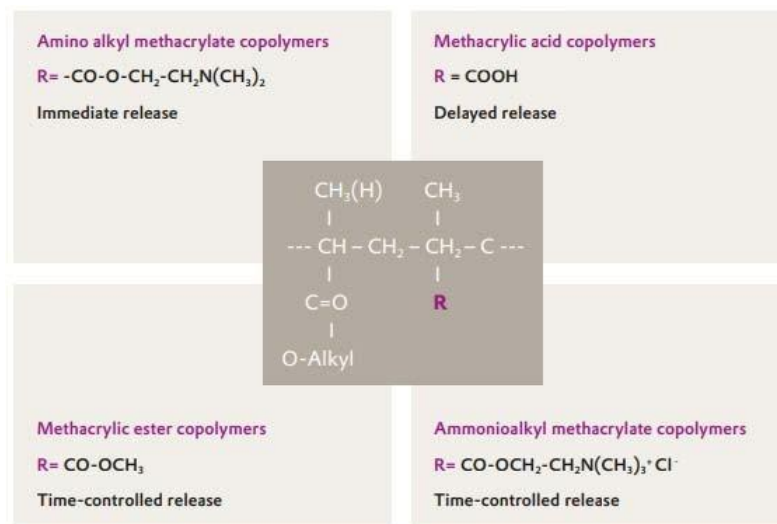
A utilização de polímero na formulação do medicamento é um dos métodos mais eficaz de mascaramento do sabor ao paladar, pela capacidade de formar uma barreira entre o princípio ativo de sabor desagradável e a língua do animal. A seleção do excipiente polimérico é um fator importante para garantir o mascaramento, assim, os derivados de polimetacrilatos são amplamente utilizados em formulações farmacêuticas como agentes de revestimento para esta finalidade (LOPALCO, 2020).

2.2 EUDRAGIT®

Eudragit® é o nome comercial para uma gama diversificada de copolímeros à base de polimetacrilato desenvolvido em 1953 por Evonik Industries, Alemanha. São polímeros sintéticos obtidos por polimerização de ácido acrílico e ácidos metacrílicos ou seus ésteres, incluindo copolímeros aniônicos, catiônicos e neutros. Esses copolímeros exibem graus variados de solubilidade dependente e independente do pH, não apresentam absorção ou toxicidade e são dispostos comercialmente em diferentes formas físicas (dispersão aquosa, solução orgânica, grânulos e pós) (THAKRAL *et al.*, 2012).

As propriedades físico-químicas das variações de Eudragit® são determinadas por grupos funcionais agregados ao final da cadeia do polímero (Figura 2), desenvolvidos para cumprir requisitos diferentes para cada objetivo de formulação, como para liberação controlada, revestimento externo da forma farmacêutica ou mascarar sabor e odor (SUN *et al.*, 2001).

Figura 2: Estrutura química do Eudragit e as variações na cadeia.



Fonte: Evonik, 2020.

2.2.1 Eudragit® RS

Copolímero de amoniometacrilato, é obtido por copolimerização de acrilato de etila, metacrilato de metila e trimetilamônioetila, possuindo uma capacidade de intumescimento definida e permeabilidade com propriedades independentes de pH, adequados para a aplicações de revestimento de filme de liberação sustentada (PEARNCJOB *et al.*, 2003).

Este copolímero é insolúvel em água e possuem grupos de amônio quaternário presentes como sais, tornando os polímeros permeáveis. Apresenta-se como uma substância sólida na forma de grânulos incolores, transparentes a turvos, com um leve odor de amina (EVONIK, 2020; KASHIF *et al.*, 2016).

Pearnchob *et al.* (2003), trabalharam com revestimento em pó seco na formação de pellets com Eudragit® RS micronizado, para liberação prolongada de drogas. O processo de desenvolvimento dos pellets, resultou em perfis de liberação estendida e estáveis que não mudaram durante o armazenamento por 3 anos. Os pellets apresentaram superfície lisa e contínua e estrutura de filme denso.

Akhgari e Tavakol, (2016) utilizaram a combinação de Eudragit® RS e etilcelulose na formação de um sistema de revestimento para pellets contendo teofilina de liberação sustentada. Concluíram que pellets revestidos com 10% de etilcelulose e Eudragit® RS mostraram propriedades de liberação adequadas e podem servir como um sistema de liberação sustentada favorável para teofilina.

Kashif *et al.* (2016) desenvolveram micropartículas independentes de pH carregadas com ropinirol, utilizando Eudragit® RS 100 a fim de alcançar a liberação sustentada do fármaco. Com o perfil de liberação *in vitro* realizado no estudo, concluíram que as micropartículas desenvolvidas têm o potencial para sustentar a liberação de ropinirol, o que pode levar a uma redução em seus efeitos adversos.

2.2.2 Eudragit® E PO

Copolímero de éster de metacrilato apresenta-se na forma de pó micronizado, catiônico obtido por copolimerização de metacrilato de butila, metacrilato de dimetilaminoetil e metacrilato de metila, com capacidade de formação de filmes que são intumescíveis e permeáveis, muito adequada para fins de mascaramento de sabor

e odor, devido solubilidade em $\text{pH} \leq 5$, impedindo a liberação do fármaco diretamente na saliva ($\text{pH} 6,8 - 7,4$), se dissolvendo rapidamente em líquido gástrico ($\text{pH} 1,0 - 1,5$) (THAKRAL *et al.*, 2012).

Lopalco *et al.* (2020), trabalhou no mascaramento do sabor do cloridrato de propranolol em microesferas de EUDRAGIT® E PO, obtido com técnica de *prilling* (granulação por solidificação de produto fundido) para administração oral pediátrica. O fármaco usado nesse estudo tem sabor amargo e salgado que não facilita adesão do tratamento entre as crianças, especialmente em formulações líquidas de propranolol. A partir disso, foram obtidas microesferas homogêneas e adequados para serem ingeridas por crianças. Estudos de liberação confirmaram baixa liberação e dissolução da droga na saliva artificial e a dissolução imediata em meio gástrico simulado.

Gryczke *et al.* (2011), produziram comprimidos de dispersão oral de ibuprofeno, incorporado em matriz de Eudragit® EPO, formando grânulos que foram incorporados na formulação. Além dos ensaios para avaliação do comprimido quanto às suas propriedades como dureza, friabilidade e o perfil de dissolução, também foi realizada avaliação do sabor e sensorial em voluntários humanos, demonstrando excelência em mascarar o sabor amargo do princípio ativo, melhorando a palatabilidade do comprimido.

Como exemplo de combinação de polímeros, Moustafine *et al.* (2013), utilizaram Eudragit® EPO como um polímero complementar para o desenvolvimento de medicamentos orais com propriedades de liberação controlada de diclofenaco de sódio e teofilina, e em associação com Eudragit® L 100. Os resultados de liberação dos fármacos confirmaram que a combinação dos diferentes polímeros tem potencial para serem usados na administração oral controlada de drogas.

Não foram encontrados trabalhos realizados com copolímeros à base de polimetacrilato com finalidade veterinária, em todos os levantamentos bibliográficos para Eudragit® citados, são de desenvolvimento para uso humano.

2.3 PALATABILIZANTES

Palatabilidade é a medida que indica aceitação ou preferência de um produto em detrimento de outro, envolvendo o sabor, que é uma sensação mista englobando principalmente o gosto (paladar) e aroma/odor, e também, sensações táteis. Odor é a

soma das pistas olfativas dos objetos ou alimentos e do meio ambiente, podendo sofrer influências por umidade e temperatura (ALDRICH *et al.*, 2015).

A avaliação da palatabilidade é extremamente importante para indústrias veterinárias, alimentícias e farmacêuticas, uma vez que este quesito está associado ao prazer do animal na ingestão de alimentos, petiscos ou medicamentos. Em virtude disso, o desenvolvimento de medicamentos orais palatáveis é uma maneira eficaz de proporcionar conforto ao animal durante a terapia, pois são aceitos e consumidos por eles, otimizando a conveniência ao tutor e ao animal (ARAÚJO *et al.*, 2004; THOMBRE, 2004).

Alimentar ou oferecer guloseimas é um momento de estreitamento do vínculo entre tutores e seus animais, referindo-se as emoções para ambos. O ato de medicar o animal pode ser associado à esses momentos, desde que o medicamento seja aceito pelo mesmo. Medicamentos com palatabilidade agradável, melhora a saúde e o bem-estar dos animais e aumenta a satisfação do tutor (TOBIE *et al.*, 2014).

A maioria das administrações medicamentosas é conduzida pelos próprios tutores e, portanto, o conforto é fundamental para a resultado bem-sucedido do tratamento. Melhorar a conformidade na administração, resultará em taxa de cura mais alta, menor dificuldade de ingestão e redução do risco de resistência bacteriana que pode ocorrer com a falta de aderência a tratamentos com antibióticos (CRON *et al.*, 2014).

Thombre (2004), descreve a necessidade crescente de formas farmacêuticas orais sólidas altamente palatáveis para animais de pequeno porte, por serem voluntariamente aceito por cães e gatos, ressaltando grande impacto nas necessidades médicas, como conveniência e conformidade, particularmente para medicamentos administrados cronicamente.

Cron *et al.* (2014), realizaram um estudo comparativo entre três formulações sólidas orais comerciais de marbofloxacina quanto a aceitação de palatabilidade por gatos. Sendo um comprimido mastigável e palatável (EFEX®), um comprimido palatável (MARBOCYL P®) e outro não palatável (MARBOCYL Vet®), a fim de chamar a atenção para o problema de adesão ao antibiótico terapia em animais difíceis de medicar, como gatos. Os testes de aceitação foram executados comparando a ingestão espontânea e o consumo total dos produtos farmacêuticos. Os resultados mostraram que o EFEX® foi aceito por 70,8% dos gatos, seguido por

MARBOCYL P® consumido espontaneamente por 62,5% dos felinos e os comprimidos não palatáveis MARBOCYL Vet® 12,5% de aceitabilidade.

Hofmanová *et al.* (2020), voltados ao processo de revestimento, descreveram a importância da palatabilidade e aceitabilidade na experiência sensorial do paciente na administração de medicamento oral. Com base nisso, estudaram a partir de um léxico formal e um círculo sensorial a padronização da avaliação sensorial de comprimidos revestidos, quanto a sabor e textura. Hofmanová e colaboradores não alcançaram uma conclusão única em relação à preferência dos pacientes estudados, mas geraram caminhos para futuras pesquisas.

2.4 REVESTIMENTO DE PÓS POR GRANULAÇÃO ÚMIDA

A tecnologia de revestimento permite variações em termos de composições e processos de fabricação, permitindo flexibilidade e eficiência, combinando custos e funcionalidade desejada a formulação. Além de processos de fabricação específicos que devem ser implementados para alcançar a função desejada ao medicamento, a técnica de revestir pós e grânulos também requerem o uso de novos excipientes e formulações (SAUER *et al.*, 2013).

Considerado uma importante etapa no desenvolvimento de medicamentos sólidos orais, o revestimento é um dos processos mais antigos que continuam presentes em formulações ou na otimização de formas farmacêuticas já existentes. Pode ser aplicado à pós, grânulos ou superfície de comprimidos, podendo ou não modificar a liberação do fármaco a partir das propriedades do revestimento (REMINGTON, 2004; ROLIN *et al.*, 2009).

O revestimento por película é um processo que envolve a deposição de uma película fina e uniforme na superfície do comprimido. Utilizando a técnica de revestimento, Viana *et al.* (2006), desenvolveram formulação de comprimidos de efavirenz, utilizados na terapia anti-HIV, revestidos com Opadry® Y-1-7000. Devido as características sensoriais de efavirenz, tornou-se necessária a utilização de um revestimento para mascarar odor e sabor do fármaco nos comprimidos produzidos, não comprometendo o processo de dissolução, pois houve liberação superior a 80% em 45 minutos.

A formação de filme com uso de solventes orgânico é um processo rápido e simplificado de revestimento devido à completa dissolução do polímero. A opção por

essa técnica, ocorre quando o princípio ativo é sensível à água ou quando a substância é insolúvel em água., nesses casos são usados solventes orgânicos para evitar problemas com a formulação. Além da degradação do princípio ativo, a migração de água pode ocorrer durante o processo de granulação e revestimento, ou durante o armazenamento, comprometendo a qualidade do produto final (SAUER *et al.*, 2013).

A granulação úmida é uma técnica comumente usada para, entre outras funções, aumentar o tamanho das partículas dos pós na fabricação de medicamentos (MEIER, *et al* 2015). É um procedimento chave usado na indústria farmacêutica para otimizar o fluxo de pó, melhorar a uniformidade de conteúdo do produto acabado e auxiliar na compressibilidade. A composição de agregados granulares tem efeito também em propriedades mecânicas, impactando no desempenho da produção de comprimidos, uma vez que o grânulo formado com características satisfatórias tem capacidade de força para suportar a fabricação e porosidade, facilitando a desintegração da forma farmacêutica e dissolução do fármaco (VAN DEN BAN *et al.*, 2017).

Saravanan *et al.* (2003) desenvolveram comprimidos de cefalexina com liberação estendida à base de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e Eudragit® L100, utilizando a técnica de granulação úmida e alterando vários parâmetros físicos e químicos, a fim de obter a formulação ideal. Uma das variações na produção foi a proporção de Eudragit® L100. Como resultado, todas as formulações apresentaram liberação sustentada, porém a taxa de liberação de comprimidos preparados com maior quantidade de Eudragit® L100, foi mais lenta. A maior porcentagem de polímero reduz a permeação de água nos grânulos e, portanto, produz uma liberação mais lenta.

Para que ocorra a granulação, é necessário que um líquido, contendo agente aglutinante, seja adicionado a mistura de pó para que ocorra a aglomeração das partículas do pó. No entanto, o líquido utilizado para umidificação é prejudicial à outras etapas do processo, causando a aderência na superfície do equipamento de obtenção dos comprimidos. Por esse motivo, o líquido empregado para a formação dos grânulos deve ser removido, conseqüentemente uma granulação úmida é seguida por processo de secagem dos grânulos. Com a secagem, as propriedades de mistura em pó, como fluidez, densidade e comportamento de segregação, são ajustadas para

processo seguinte, a compressão ou compactação (SCHMIDT *et al.*, 2018; AZAD, 2019).

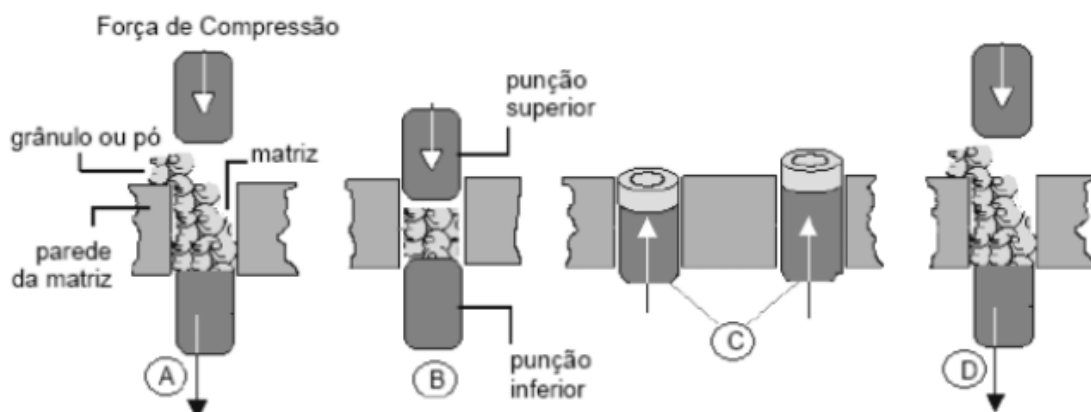
2.5 COMPRIMIDOS

As formas farmacêuticas sólidas orais representam a grande maioria de todas as formas de dosagem comercializadas, devido as vantagens econômicas e de estabilidade. Comprimidos convencionais são compostos de misturas de pós, ou grânulos, constituído por um ou mais princípio ativo e excipientes funcionais, que sofrem força de compactação adquirindo a forma física de comprimido (CHEN *et al.*, 2019; FUENMAYOR *et al.*, 2019).

Entre os processos de fabricação de comprimidos, a compressão direta é o mais simples e econômico, onde as etapas consistem apenas em tamização, mistura dos pós e compressão. Conta ainda, com vantagens como a diminuição dos estágios de processamento, ausência da necessidade de calor e umidade, maior eficiência de fabricação e estabilidade física e química (JÄRVINEN *et al.*, 2012; MARTINELLO *et al.*, 2006).

A compressão ocorre em uma matriz pela ação de dois punções que atuam em direções opostas, sendo um inferior e outro superior responsáveis pela força de compressão aplicada à formulação, exemplificado na Figura 3. É devido a força de compressão, que os materiais sofrem redução de volume, promovendo a proximidade das superfícies da mistura de pós compactada. Como resultado final, é obtido um produto poroso de geometria definida (AULTON, 2006).

Figura 3: Representação básica do processo de compressão.



Fonte: VILLANOVA, 2008.

No processo de compressão direta, as partículas são unidas em forte ligação, onde a manutenção dessa ligação caracterizará a estabilidade do comprimido formado, ou seja, o comprimido estável manterá essas ligações durante a descompressão, enquanto os comprimidos instáveis sofrerão rachaduras e desintegração devido à falta de coesão entre os pós (FUENMAYOR *et al.*, 2019).

Fuenmayor *et al.* (2019) utilizaram impressora 3D (Makerbot® Industries, Nova York, EUA) com capacidade de mistura para a obtenção de filamentos fundidos, com formulação composta de uma mistura de polímeros e cafeína, para produção de comprimidos com dois processos de compressão distintos. Com isso, promoveram um estudo de comparação entre compressão direta e moldagem por injeção na fabricação de comprimidos orais com os filamentos fundidos obtidos na impressão 3D.

A compressão direta é um processo conhecido na obtenção de comprimidos orais sólidos e a moldagem por injeção é uma técnica mais avançada para a compactação. O processo de moldagem por injeção é uma técnica de moldagem que consiste basicamente em forçar a entrada de material fundido para o interior da cavidade de um molde, capaz de produzir facilmente peças complexas com exatidão e precisão (Fuenmayor *et al.*, 2019). Como resultado de dissolução para as formulações, os comprimidos obtidos por compressão direta apresentaram liberação imediata, entretanto, o lote produzido por moldagem por injeção forneceu liberação sustentada por 48 horas. Com isso, concluíram que comprimidos produzidos com filamentos fundidos apresentaram flexibilidade de trabalho em ambos os tipos de liberação e em ambos os processos de compressão.

Fuenmayor *et al.* (2019) utilizou a comparação do método de compressão direta com técnica moderna de moldagem por injeção, porém a qualidade de comprimidos fabricados por compressão direta não é nova na literatura, sendo citada por CROWLEY *et al.* (2004), LIU *et al.* (2001) e LORETI *et al.* (2014), evidenciando que mesmo não sendo uma técnica recente, ainda é uma boa escolha na obtenção de comprimidos.

Vários fatores controlam a produção bem-sucedida de um comprimido em relação aos critérios estabelecidos para parâmetros de fabricação. Entre os testes estão os de resistência mecânica, tais como dureza e friabilidade, além do teor e dissolução que são realizados com intuito de avaliar a qualidade dos comprimidos produzidos por compactação (CHEN *et al.*, 2019).

Em relação à capacidade de fabricação, tanto a fluidez do pó quanto a capacidade de compressão da mistura são pontos críticos para garantir um produto final com qualidade, isto é, a mistura seca de excipientes e fármaco, é fundamental para a obtenção dos comprimidos (MARTINELLO *et al.*, 2006).

Excipientes são definidos pelo Conselho Internacional de Excipientes Farmacêuticos (IPEC) como qualquer substância, que difere do fármaco ou do pró-fármaco, tendo sua segurança avaliada, assim, podendo ser incluído na fórmula farmacêutica. Os excipientes têm a funcionalidade de auxiliar o processamento ou a fabricação, proteger e melhorar a estabilidade, biodisponibilidade ou aceitabilidade do paciente, auxiliar na identificação do produto ou aprimorar qualquer outro atributo de segurança e eficácia do medicamento durante o armazenamento ou uso. Em formulações de comprimidos, além do princípio ativo, os excipientes comumente usados, tem funcionalidades como diluentes, aglutinantes, desintegrantes, lubrificantes e agentes de revestimento (DARJI *et al.*, 2017).

Os diluentes são frequentemente adicionados às formulações de comprimidos para ajustar o peso do comprimido. Já os aglutinantes, na forma de pó ou de líquido de umedecimento, são adicionados para melhorar a coesão e auxiliar no processo da compressão direta melhorando o fluxo dos pós (DARJI *et al.*, 2017).

Desintegrantes são utilizados para aumentar a velocidade de desintegração dos comprimidos, favorecendo a liberação do princípio ativo. Um dos mecanismos desses agentes é que na presença de líquido orgânico, intumescem para liberar o IFA do comprimido formando uma massa sólida (ZHOU *et al.*, 2009).

Lubrificantes, antiaderentes e deslizantes reduzem o atrito na interface entre a superfície do comprimido e a parede dos punções evitando a aderência, facilitando a ejeção dos comprimidos já formados da cavidade da matriz. Eles também são adicionados como deslizantes para aumentar o fluxo de pó, reduzindo o atrito entre partículas (PANAKANT *et al.*, 2012).

O revestimento é o um passo crucial na produção de comprimidos, tendo como um dos propósitos, como mascarar o sabor, odor ou melhorar a cor do produto final, atuando como uma barreira para evitar a degradação da droga (THAKRAL *et al.*, 2012). A prática de revestimento por película fina e uniforme na superfície do comprimido é muito comum (Viana *et al.*, 2006), mas não é capaz de conter o sabor e odor do fármaco quando ocorre a mastigação do comprimido pelo animal, não sendo possível sua aplicabilidade em comprimidos mastigáveis veterinários. Em virtude

disso, o objetivo do trabalho foi revestir o fármaco com polímero, obter os grânulos contendo IFA, e a partir disso, obter o comprimido palatável, permitindo que o animal seja medicado sem inconvenientes de rejeição devido ao sabor amargo da cefalexina.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver comprimidos palatáveis para animais de pequeno porte com o objetivo de mascarar o sabor da cefalexina pelo processo de revestimento do fármaco, e avaliar eficácia do revestimento *in vitro*.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver grânulos de cefalexina revestidos com polímeros Eudragit® E PO e Eudragit® RS por granulação úmida
- Quantificar a cefalexina contida nos grânulos por análise de teor cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE);
- Caracterizar as partículas revestidas pelos métodos de microscopia eletrônica de varredura (MEV), Análise de Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC) e Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).
- Desenvolver o comprimido com propriedades palatáveis a partir de grânulos revestidos contendo cefalexina revestida;
- Avaliar o perfil de dissolução *in vitro* das formulações.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

Cefalexina IFA Sigma- Aldrich, Padrão Cefalexina Farmacopéia Americana-USP, Fosfato de sódio dibásico dodecahidratado- Panreac, Fosfato de potássio monobásico- Merck, Metanol- Merck, Álcool etílico absoluto- Alphatec, 1- Pentasulfonato de sódio- Vetec, Acetonitrila- J.T Baker, Trietilamina- Thermo e Ácido fosfórico- Merck, Eudragit® RS e Eudragit® E PO- Evonik, Cefalexina (PA), Polividona K30® (Polivinilpirrolidona), Celulose Microcristalina pH 102, Emdex® (Dextrates), Palatabilizante sabor carne, Talco, Estearato de Sódio, Fosfato de sódio Dibásico- Êxodo Cinética, Fosfato de Potássio Dibásico- Alphatec, Cloreto de Sódio- Anidrol, Ácido Hidroclorídrico 37%- Biotec.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Revestimento da cefalexina pó por granulação úmida

Foram preparados grânulos de cefalexina utilizando dois tipos de agente de revestimento, Eudragit® RS e Eudragit® E PO por meio da técnica de granulação úmida. Ambos os revestimentos foram utilizados em forma de pó, dispersos em uma solução de etanol 95%, sob agitação magnética (modelo Lucadema). A dispersão dos polímeros foi preparada para 2mL de solução de etanólica, variando a concentração de Eudragit® RS e Eudragit® E PO conforme Tabela 1.

Tabela 1: Revestimento e quantificação de grânulos de cefalexina.

Concentração de Eudragit® (%)	Quantidade de Eudragit® (mg)	Quantidade de Cefalexina (mg)
80	1,6	150
85	1,7	150
90	1,8	150

Fonte: Autora.

Em todas as concentrações das soluções etanólicas de Eudragit® RS ou Eudragit® E PO foram usados 150mg de cefalexina para a granulação, feita manualmente, sendo adicionado vagorosamente 2mL da mistura com os polímeros. A adição da solução de Eudragit® RS ou Eudragit® E PO, no primeiro momento, ocorreu em sua totalidade, incorporando 2mL diretamente nas 150mg de cefalexina, ficando o princípio ativo totalmente submerso à solução, impossibilitando a granulação e inviabilizando a adição de 2mL da solução em etapa única. A partir disso, a adição do agente de revestimento foi dividida em duas etapas, sendo granulado primeiro com 1mL da mistura e após 2 horas de intervalo para secagem em temperatura ambiente, o granulado foi finalizado com 1mL restante. Ao término deste processo, os grânulos foram secos em estufa (modelo TE- 393/ 2) à 40°C, por 24 horas e analisados em CLAE, conforme item 4.2.3.

O preparo das formulações com diferentes proporções de polímeros, viabilizou a escolha do melhor revestimento de cefalexina, a fim de minimizar o sabor desagradável do IFA e posterior produção de comprimidos com adição de palatilizante.

4.2.2 Validação Analítica Parcial

Para validação parcial do método analítico foi utilizado o método farmacopeico de cefalexina validado por uma indústria farmacêutica da região de Londrina- PR.

Validação analítica é a avaliação sistemática de um método reproduzido por testes analíticos, com finalidade de confirmar e fornecer evidências objetivas de que os requisitos específicos para seu uso pretendido são atendidos. A validação parcial é permitida para demonstrar que um método previamente validado, é passível de reprodutibilidade de resultados com a qualidade exigida, nas condições em que é praticado, por meio de alguns parâmetros de validação, garantindo que o método analítico produz resultados confiáveis e é adequado à finalidade a que se destina. Precisão, exatidão e seletividade são os testes mínimos a serem avaliados na validação parcial (ANVISA, 2020).

Conforme art.39 da RDC nº 166 de 2017, o método é considerado validado avaliando o desempenho dos testes quanto ao objetivo do método, variabilidade intrínseca do método, concentração de trabalho, e concentração do analito na amostra.

4.2.2.1 Validação parcial de método para quantificação dos grânulos de cefalexina revestidos com Eudragit® por CLAE e determinação de teor nos comprimidos.

A validação parcial do método, quantificação dos grânulos revestidos de cefalexina, bem como a determinação do teor dos comprimidos, foram realizadas por CLAE Shimadzu modelo CBM- 20A, composto por uma bomba modelo LC20AT, um forno modelo CTO- 20A com amostrador de 100µL modelo SIL- 20A, um detector por absorção no UV-Vis, modelo SPD- M20A operando em 220nm, utilizando programa LC Solution para obtenção e análise dos dados. Coluna Nucleosil 100-5 C18 125 x 4,0mm x 5µm, fluxo de 2,0mL/minuto, temperatura de coluna a 50°C, volume de injeção 10µL. A fase móvel composta por 75% de solução tampão fosfato (1,3g fosfato de potássio monobásico e 3,3g fosfato de sódio dibásico dodecahidratado em 1000mL de água) e 25% de metanol, conforme descrito no método analítico a ser parcialmente validado.

4.2.2.2 Adequação do sistema

A adequação é o procedimento a ser realizado previamente em toda corrida analítica para demonstrar que o sistema está adequado para o uso e reprodução dos resultados (ANVISA, 2020). Para isso, foram preparadas duas soluções a partir da substância padrão de cefalexina, na concentração de 0,075mg/mL, sendo pesado exatamente 3,75mg da substância padrão diluído em água para balão volumétrico de 50mL. O primeiro preparo foi nomeado como Padrão 1 e ao segundo preparo, Padrão 2.

Foram realizadas seis injeções seguidas do Padrão 1, a fim de calcular o desvio padrão relativo entre as áreas obtidas, para mensurar a estabilidade do sistema entre as injeções.

Após, foi realizado a injeção do Padrão 2 para confirmar a precisão de pesagem no momento do preparo dos padrões.

O cálculo de recuperação dos padrões 2 é obtido a partir da Equação 1:

$$\frac{\text{Área do pico do Padrão 2} \times \text{Massa do Padrão 1} \times 100}{\text{Média das áreas Padrões 1} \times \text{Massa Padrão 2}} \quad (1)$$

Além disso, os parâmetros de assimetria do pico, pratos teóricos, desvio padrão relativo (DPR) e fator de capacidade foram avaliados para determinar a eficiência da coluna cromatográfica e adequabilidade do equipamento, assegurando a capacidade de gerar resultados confiáveis.

4.2.2.3 Linearidade

O objetivo da linearidade é a obtenção de resultados que representem proporção direta às concentrações da substância a ser analisada (ANVISA, 2020). Para análise de linearidade é necessário a construção de uma curva de linearidade, onde o eixo x se refere à concentração da solução e o eixo y a área obtida (Equação 2):

$$y=ax+b \quad (2)$$

Onde:

a= coeficiente angular (expressa inclinação da reta)

b= coeficiente linear (expressa a intersecção da curva aos eixos).

Utilizou-se o método dos mínimos quadrados para estabelecer a curva de calibração, que é construída com cinco diferentes concentrações e três repetições por nível de concentração.

A solução estoque padrão analítico de cefalexina foi preparada na concentração de 0,1mg/mL considerando pureza de 99,8% indicado pelo fabricante United States Pharmacopeia (USP).

O preparo foi realizado em triplicata para cada concentração de amostra utilizada no ensaio de linearidade conforme Tabela 2, sendo considerada a média de cada concentração para obtenção do diagrama de dispersão.

Tabela 2: Preparo de amostras para o ensaio de linearidade da cefalexina.

Concentração da amostra (%)	Volume Solução Estoque (mL)	Balão Volumétrico (mL)
80	0,0600	10
90	0,0675	10
100	0,0750	10
110	0,8250	10
120	0,9000	10

Fonte: Autora

4.2.2.4 Precisão

A precisão é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas múltiplas para a mesma amostra, por meio dos testes de repetibilidade e precisão intermediária, calculando o desvio padrão relativo (DPR) da recuperação das injeções, calculada através da Equação 3 (ANVISA, 2020):

$$\text{DPR} = \frac{\text{DP}}{\text{CMD}} \times 100 \quad (3)$$

Onde:

DP= desvio padrão

CMD= concentração média determinada.

4.2.2.4.1 Repetibilidade

O teste de repetibilidade tem por finalidade, avaliar amostras com as mesmas condições de operação, mesma instrumentação e equipamento, em uma única corrida analítica, ou seja, no mesmo dia, devendo utilizar, no mínimo, nove determinações, podendo ser seis réplicas a 100% da concentração do teste individualmente preparadas (ANVISA, 2020).

Dessa forma, as amostras foram preparadas individualmente em sextuplicata na concentração de 0,075mg/mL, a fim de replicar a concentração final obtida na formulação do comprimido de 75mg de IFA. Cada uma das seis amostras foi analisada em triplicata no mesmo dia, sob as mesmas condições do sistema CLAE.

4.2.2.4.2 Precisão intermediária

O ensaio de precisão intermediária aplicado para validação parcial de método avalia a proximidade entre os resultados encontrados na análise de uma mesma amostra, no mesmo laboratório, em pelo menos dois dias diferentes, preparadas nas mesmas concentrações e avaliadas com mesmo número de determinações descritas na avaliação da repetibilidade (ANVISA, 2020).

Amostras para o teste de precisão intermediária também foram preparadas em sextuplicata individualmente na concentração de 0,075mg/mL (100%), sendo pesado exatamente 3,75mg da substância ativa de cefalexina diluída em água para balão volumétrico de 50mL, sendo analisadas em conjunto de seis amostras por dia. O teste foi replicado por três dias consecutivos com intuito de garantir a precisão do sistema CLAE na reprodutibilidade do método em dias distintos.

4.2.2.5 Exatidão

A exatidão representa a proximidade entre o valor de concentração teórico e o valor de concentração conhecido do analito. A exatidão deve ser mensurada a partir três concentrações de amostras: baixa, média e alta analisadas em triplicata em cada nível de concentração (ANVISA, 2020).

As soluções foram preparadas em concentrações de 80%, 100% e 120%, sendo pesados exatamente 3,0mg, 3,75mg e 4,5mg da substância padrão de cefalexina USP, respectivamente. Foram preparadas em balão volumétrico de 50mL, adicionando 30mL de água e levadas ao ultrassom por 10 minutos, após resfriamento da solução o balão volumétrico foi completo com o mesmo diluente. Após o preparo foram transferidas para um “vial” para injeção no sistema CLAE.

Os resultados do teste de exatidão devem ser expressos pela relação percentual de recuperação da concentração média, determinada experimentalmente, e a concentração teórica correspondente (ANVISA, 2020) através da Equação 4:

$$\text{Recuperação} = \frac{\text{Concentração média analisada}}{\text{Concentração teórica}} \times 100 \quad (4)$$

4.2.2.6 Seletividade

A seletividade do método analítico é demonstrada pela capacidade de identificação ou quantificação do analito de interesse, sem que exista interferência de componentes que podem estar presentes na amostra, que interfira na pureza do pico principal, como impurezas e diluentes (ANVISA, 2020).

Para a demonstração de seletividade do método em CLAE e não interferência no tempo de retenção do pico do IFA, foram injetadas solução padrão e amostra de cefalexina em concentração de 0,075mg/mL, água ultrapura por ser o diluente indicado no método em validação, fase móvel, solução de Eudragit® E PO em concentração de 0,075mg/mL, solução de Eudragit® RS em concentração de 0,075mg/mL e solução placebo com os componentes da fórmula do produto final, analisadas no mesmo dia nas mesmas condições do sistema CLAE.

4.2.3 Quantificação da cefalexina nos grânulos revestidos com Eudragit E PO® e Eudragit RS® por CLAE

4.2.3.1 Preparo das amostras

Para o preparo das amostras a serem quantificadas em CLAE foi considerado a concentração do padrão de cefalexina a ser usado conforme validação do método, para que estivessem na mesma proporção de ativo de 0,075mg/mL. Para isso, na pesagem de cada concentração dos grânulos foi descontada a quantidade usada de polímero no preparo do grânulo, conforme Tabela 3.

Tabela 3: Quantidade de grânulo pesado para preparação das amostras em concentrações de 80, 85 e 90%.

Concentração de Eudragit® (%)	Quantidade de Eudragit® (mg)	Quantidade de grânulo pesado (mg)
Padrão de cefalexina		3,75
80	1,6	5,35
85	1,7	5,45
90	1,8	5,55

Fonte: Autora

As amostras e o padrão de cefalexina foram pesados conforme Tabela 3 para balão volumétrico de 50mL, usando água como diluente. Foram preparadas duas amostras para cada tipo de polímero de revestimento, sendo identificadas como Amostra 01, a amostra preparada imediatamente antes da análise, sem que houvesse diluição completa dos grânulos, a fim de quantificar a cefalexina livre, ou seja, o IFA não revestido pela granulação, tanto com Eudragit® E PO quanto com Eudragit® RS. As amostras nomeadas como Amostra 2, foram preparadas da mesma forma, usando o ultrassom modelo Ultracleaner 1400, por 10 minutos para que houvesse a diluição completa dos grânulos e após o resfriamento da solução completou o balão volumétrico com o mesmo diluente. O uso do ultrassom permite a quantificação de todo o princípio ativo contido na solução. A nomeação das amostras está ilustrada na Tabela 4.

Tabela 4: Amostras analisadas em CLAE, divididas por polímero de revestimento, concentração e uso de ultrassom.

Amostras sem uso de ultrassom	Uso de Ultrassom por 10 minutos.
Amostra 1 Eudragit® E PO 80%	Amostra 2 Eudragit® E PO 80%
Amostra 1 Eudragit® E PO 85%	Amostra 2 Eudragit® E PO 85%
Amostra 1 Eudragit® E PO 90%	Amostra 2 Eudragit® E PO 90%
Amostra 1 Eudragit® RS 80%	Amostra 2 Eudragit® RS 80%
Amostra 1 Eudragit® RS 85%	Amostra 2 Eudragit® RS 85%
Amostra 1 Eudragit® RS 90%	Amostra 2 Eudragit® RS 90%

Fonte: Autora

A quantificação de cefalexina presente nos grânulos revestidos foi calculada conforme Equação 5:

$$\text{Teor (\%)} = \frac{\text{área da amostra} \times \text{peso padrão (mg)} \times \text{potência padrão (\%)}}{\text{Média da área padrão} \times \text{peso amostra (mg)}} \quad (5)$$

O resultado final de cefalexina revestida foi calculado pela diferença entre os resultados de teor (%) da amostra 1 e amostra 2 para cada concentração e tipo de polímero usado para o revestimento, ou seja, por conjunto de amostras.

4.2.4 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Foram realizadas análises de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) dos grânulos de cefalexina revestidos com Eudragit® RS, com Eudragit® E PO, do princípio ativo sem revestimento e dos polímeros sem cefalexina, utilizando espectrômetro IR PRESTIGE-21 (Shimadzu, Japão) do Laboratório de Espectroscopia - ESPEC da Central Multiusuária de Laboratórios de Pesquisa da UEL (CMLP), no modo de transmissão na faixa de 400 a 4000 cm^{-1} . Com objetivo de confirmar o revestimento do fármaco nos grânulos, foi realizada a leitura dos espectros e identificação das bandas de absorção na região do infravermelho de cefalexina, Eudragit® RS e Eudragit® E PO isoladamente e dos granulados preparados com ambos os polímeros. Para realizar as análises, as amostras sólidas foram preparadas em pastilhas de brometo de potássio (KBr). Para cada amostra, adicionou-se em forma de pó cada elemento a ser analisado e KBr, a mistura foi homogeneizada utilizando pistilo e gral de ágata, até obter um pó fino, em seguida, o pó foi prensado no formato de pastilha usando uma prensa hidráulica manual (Specac) até a pressão de 5 toneladas, adaptado de Wang *et al.* (2006).

4.2.5 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A análise realizada por DSC determina a quantidade de energia necessária para manter a amostra sob a mesma temperatura da referência, mensurando a variação de energia entre elas. A variação na temperatura de uma amostra, determina o processo sofrido por ela, ou seja, havendo liberação de calor o processo é exotérmico, com absorção de calor o processo é endotérmico. A partir da variação de temperatura, são detectados fenômenos, denominados como: transição cristalina, fusão, vaporização, adsorção, transição vítrea, desidratação, decomposição, combustão, polimerização, pureza e estabilidade térmica, entre outros (BARACAT *et al.*, 2004; BERNAL *et al.*, 2002; LIN, 2011).

As curvas de DSC de cefalexina, Eudragit® RS, Eudragit® E PO e dos granulados foram realizadas em equipamento Shimadzu DSC-60. As amostras foram aquecidas de 25 a 400 °C com razão de aquecimento de 10 °C/min em atmosfera de nitrogênio.

4.2.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia dos grânulos revestidos com Eudragit® RS, Eudragit® E PO, foi analisada utilizando-se o Microscópio Eletrônico de Varredura Quanta 200 (Phillips-FEI, Holanda) do Laboratório de Microscopia Eletrônica e de Microanálise - LMEM da Central Multiusuária de Laboratórios de Pesquisa da UEL (CMLP), as amostras foram cobertas com ouro em atmosfera de argônio e as imagens obtidas com um aumento de 200, 1500, 6000 e 24000 vezes (ATKINS, 2006; LAMPRECHT *et al.*, 2000).

4.2.7 Preparação dos Comprimidos Palatáveis

Com o intuito de obter-se um produto final com 75mg de cefalexina e peso médio de 180mg, os comprimidos foram igualmente formulados conforme Tabela 5, diferenciando apenas o granulado de cefalexina revestido por Eudragit® RS ou Eudragit® E PO e placebo. Foram obtidos aproximadamente 11000 comprimidos com a formulação RS (grânulos de cefalexina revestidos com Eudragit® RS) e 11000 comprimidos com a formulação E PO (grânulos de cefalexina revestidos com Eudragit® E PO), pela técnica de compressão direta (compressora Nauberguer, modelo MN2). A compressão também foi realizada para o lote placebo (Tabela 5) e o ajuste da máquina compressora realizado no início de cada processo de compressão.

Tabela 5: Formulação de comprimidos com granulado de cefalexina revestido com Eudragit® RS ou Eudragit® E PO e placebo.

Formulação	Função	Quantidade (%)
Granulado de cefalexina revestido com Eudragit® RS ou Eudragit® E PO	Princípio ativo revestido	46
Polivinilpirrolidona (Povidona K30 ®)	Aglutinante	5
Celulose Microcristalina pH102	Diluente	35
Dextrato (Emdex®)	Auxilia na palatabilidade	10
Palatabilizante Sabor Carne	Palatabilidade	5,5
Talco grau farmacêutico	Lubrificante, Deslizante,	3
Estearato de Magnésio	Lubrificante, anti aderente	1
Amidoglicolato de Sódio	Desintegrante	0,5

Fonte: Autora

A mistura do granulado de cefalexina revestida com Eudragit® RS ou Eudragit® E PO, povidona K30®, celulose microcristalina pH102, emdex® e palatabilizante, ocorreu por quinze (15) minutos manualmente, formando uma mistura homogênea. Após esse período de mistura foram adicionados talco, estearato de magnésio e amidoglicolato de sódio, misturados juntamente com o restante dos pós por mais cinco (5) minutos. Ao longo do processo de compressão, para ambas as formulações, foram realizados testes de controle em processo para garantir a qualidade esperada do produto final.

4.2.8 Controle em Processo

4.2.8.1 Peso médio

Para o teste de peso médio, foram amostrados dez comprimidos a cada 10 minutos, durante todo o processo de compressão, e pesados individualmente. Somando todos os resultados e dividindo pela quantidade de comprimidos pesados, para obter o peso médio de cada 10 minutos, calculando o desvio padrão entre os comprimidos de cada lote e o desvio padrão entre os 10 lotes. Neste teste foi utilizada

balança Mettler, modelo AE200. Conforme Farmacopeia Brasileira, 6ª edição (2019), os comprimidos não revestidos com peso unitário maior que 80 mg e menor que 250 mg devem respeitar o limite de variação de $\pm 7,5\%$ do peso teórico, sendo que é permitida a tolerância de não mais que duas unidades fora dos limites especificados.

4.2.8.2 Dureza

Realizado com 10 comprimidos, a cada 10 minutos, durante o processo de compressão, eliminando qualquer resíduo superficial antes de cada determinação. Os comprimidos foram testados, individualmente, alocados no aparelho durômetro marca Erweka, modelo TBH200 sempre na mesma posição. O resultado é expresso pela média dos resultados obtidos e considerado um teste informativo pela Farmacopeia Brasileira 6ª. Edição (ANVISA, 2019). Entretanto, Nagashima, *et al.* (2013) descreve o valor mínimo aceitável de 30N.

4.2.8.3 Friabilidade

No teste de friabilidade é necessário pesar com exatidão um número determinado de comprimidos, submetê-los à 100 rotações. Após as rotações, todos os comprimidos são pesados novamente após remover qualquer resíduo de pó. A diferença entre o peso inicial e o final representa a friabilidade, medida em função da porcentagem de pó perdido. Foram utilizados 20 comprimidos, a cada 10 minutos, durante todo o processo de compressão. O teste foi realizado no aparelho friabilômetro Erweka, modelo TA200.

O resultado do teste é calculado de acordo com a Equação 6:

$$\text{Pó perdido (\%)} = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso inicial}} \times 100 \quad (6)$$

São considerados aceitáveis os comprimidos com perda igual ou inferior a 1,5% do seu peso conforme preconizados pela Farmacopeia Brasileira 6ª. Edição (ANVISA, 2019).

4.2.9 Determinação de Teor de cefalexina dos comprimidos

A determinação do teor de cefalexina dos comprimidos obtidos por compressão direta com as formulações de granulado de cefalexina revestido com Eudragit® RS ou Eudragit® E PO, foi realizada por CLAE, conforme metodologia descrita no item 4.2.3. Para a quantificação, foram preparadas amostras em triplicata para cada formulação. Foram macerados 20 comprimidos de cada formulação e pesados exatos 3,75mg para balão volumétrico de 50mL, adicionados 30mL de água, com uso de o ultrassom modelo Ultracleaner 1400, por 10 minutos para que houvesse a diluição completa dos grânulos e após o resfriamento da solução completou o balão volumétrico com o mesmo diluente. Uma alíquota de 10mL de cada amostra foi transferida para um tubo de centrifuga e centrifugados por 5 minutos a 2000rpm em centrifuga marca FANEM, modelo Excelsa Baby. O sobrenadante de cada amostra foi filtrado por unidade filtrante Millex Durapore PVDF 0,45µm e envasados para análise.

4.2.10 Varredura

Foi realizada varredura para determinar comprimento de onda com máxima absorção de cefalexina nos meios de dissolução, utilizados no ensaio de perfil de dissolução. Para isso, foram preparadas amostras de cefalexina em água, ácido clorídrico 0,1M e em mucosa artificial na concentração de 28µg/mL, lidas em comprimento de onda entre 220 a 320nm com intervalo de λ 1nm por leitura em espectrofotômetro marca Thermo Scientific, modelo Evolution 60. A varredura possibilitou a adequação do espectrofotômetro para a quantificação das amostras em comprimento de onda adequado, para obtenção de um resultado fidedigno do ensaio de perfil de dissolução.

4.2.11 Perfil de liberação por Espectrofotometria UV/Vis

O perfil de dissolução é um ensaio analítico com coletas que ocorrem em diferentes tempos, em um intervalo adequado para a caracterização da velocidade de dissolução do fármaco, obtido pelo doseamento (ANVISA, 2020).

Para o teste foi utilizado dissolutor marca Erweka modelo DT6, com rotação de 100 rpm, equipado com aparato tipo I (cesto) com volume 500mL de meio de dissolução por cuba à 37°C.

O ensaio foi realizado com três diferentes meios de dissolução, a fim de comparar e avaliar em qual meio a cefalexina revestida com os polímeros Eudragit® RS e Eudragit® E PO apresenta a melhor performance de liberação.

Conforme Liew *et al.* (2013) e preconizado na USP, a cefalexina é solúvel em água, por esse motivo, um dos testes de perfil de dissolução foi realizado com água como meio de dissolução para ambas formulações, utilizando os parâmetros acima descritos.

Para a realização de um segundo ensaio de perfil de dissolução, utilizou-se ácido clorídrico HCl 0,1M simulando as condições do suco gástrico. Segundo Lopalco *et al.* (2020) e Evonik (2020), a solubilidade do polímero Eudragit® E PO ocorre com melhor desempenho em pH<5,0. Além disso, Pearnchob *et al.* (2003) mostram a característica de solubilidade do Eudragit® RS em pH independente. Sendo assim, o ensaio de perfil de dissolução com HCl 0,1M, permitiu observar o comportamento de ambos os polímeros nas formulações em meio ácido.

O perfil de dissolução do comprimido e a solubilidade dos polímeros, também foram testados, realizando o ensaio em um terceiro meio, preparado com 2,38g NaH₂PO₄, 0,19g KH₂PO₄ e 8g NaCl pH 7,0, simulando mucosa artificial (COUTO, 2015) para a avaliação do comportamento das formulações durante a sua permanência na cavidade bucal do animal.

Os perfis de dissolução foram realizados em triplicata para todos os meios, coletando alíquotas de 5mL. As alíquotas retiradas a cada tempo, foram repostas na mesma quantidade com o meio de dissolução. As alíquotas amostradas foram filtradas e a fração do filtrado foi diluída 1:4 adequadamente com o meio de dissolução correspondente para a análise espectrofotométrica em espectrofotômetro marca Shimadzu, modelo UV-1800.

Especialmente para os meios de dissolução, água e mucosa artificial, foram realizadas coletas a cada 2 minutos durante os primeiros 15 minutos do ensaio. Após isso, foram coletadas a cada 15 minutos até 2 horas de ensaio e deu-se continuidade nas coletas a cada 30 minutos até completar 8 horas de ensaio. Quando foi testado com HCl 0,1M, a retirada de alíquota ocorreu a cada 15 minutos pelo período de 2 horas.

As coletas em intervalos diferenciados para esses meios, teve por objetivo definir o tempo máximo de permanência do comprimido na cavidade bucal do animal durante a administração, até a liberação da cefalexina e conseqüentemente a percepção do sabor amargo do princípio ativo (LIEW *et al.*, 2013).

Os ensaios realizados com água e mucosa artificial foram quantificadas em comprimento de onda 262 nm. Entretanto, para o perfil de dissolução realizado com HCL 0,1M o comprimento de onda adotado para a leitura foi de 256 nm, conforme varredura descrita no item 4.2.10, em caminho ótico de 1cm.

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise estatística dos dados foi utilizado o software Minitab® 17, conforme descrito na RDC n°166 de 2017 e executados conforme Guia n°10/ 2017 da ANVISA, onde o nível de significância adotado para todos os testes apresentados foi de 5%.

Para avaliar a linearidade do método foi calculado o coeficiente de correlação de Pearson, para avaliar a homocedasticidade dos dados foi aplicado o teste de Cochran. Para avaliação da significância do coeficiente angular foi utilizado o teste F da ANOVA. Para avaliação do intercepto (coeficiente linear) foi utilizada a estatística t de Student. Para avaliar a independência dos dados foi aplicado o teste de Durbin-Watson. Para avaliar a Normalidade dos dados foi aplicado o teste de Ryan-Joiner.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 VALIDAÇÃO PARCIAL DE MÉTODO

5.1.1 Adequação do Sistema

Os valores obtidos na adequação do sistema pela sequência de seis injeções da solução padrão 1 em concentração de 0,075mg/mL e uma injeção de solução padrão 2 como confirmação do resultado preparada na mesma concentração, podem ser observados na Tabela 6.

Tabela 6: Avaliação da adequação do sistema e avaliação de eficiência de coluna cromatográfica.

Solução Padrão	Área	Recuperação (%)
Padrão 1.1	556120	
Padrão 1.2	553039	
Padrão 1.3	555381	
Padrão 1.4	553872	
Padrão 1.5	554763	
Padrão 1.6	555343	
Padrão 2	560134	100,97
Média das Áreas	554753	
DPR (%)	0,20	
Fator de Capacidade (k')	1,5	
Pratos Teóricos	3846	
Assimetria	1,0	

Fonte: Autora

Os resultados descritos na Tabela 6 demonstraram a capacidade do equipamento em gerar resultados confiáveis (USP, 2020) para a análise de cefalexina com o método proposto, tendo em vista que a repetibilidade das injeções de solução padrão 1 apresentou DRP de 0,20%, sendo esse menor que o valor de 2,0% preconizado na monografia de comprimidos de cefalexina pela farmacopéia americana. O número de pratos teóricos mensura a eficiência da coluna (USP, 2020) e não apresentou variação durante as injeções se mantendo acima de 2000

(GONÇALVES, 2014). A queda no número de prato teóricos significaria a perda de eficiência da coluna e falta de capacidade para a detecção correta dos picos. A assimetria do pico ou *tailing factor* obtido está alinhado com a descrição da monografia, onde quanto mais próximo de 1,0 mais simétrico (USP, 2020).

5.1.2 Linearidade

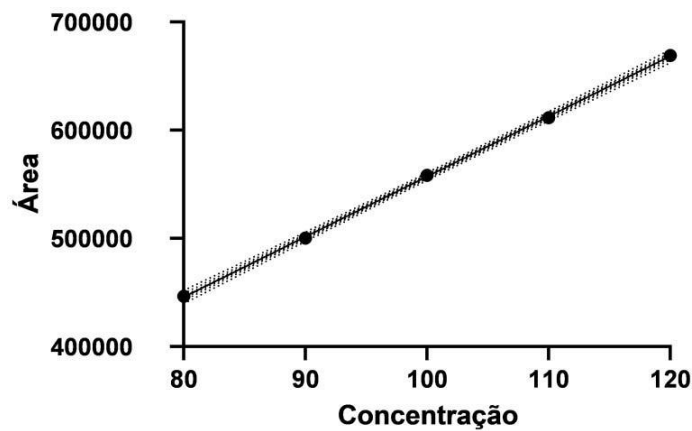
O resultado do preparo em triplicata para cada concentração de amostra utilizada no ensaio de linearidade pode ser observado na Tabela 7, sendo considerado a média de cada concentração para obtenção do diagrama de dispersão representada na Figura 4. O diagrama de dispersão demonstra a curva de calibração e permite a visualização da forte associação entre as concentrações das amostras e as áreas dos picos obtidas por CLAE (variáveis em estudo).

Tabela 7: Concentração de cefalexina utilizada no ensaio de linearidade, áreas obtidas e médias das áreas.

Concentração cefalexina (%)	Área	Média das Áreas	DP	DPR(%)	Média DPR(%)
80	445032	446503	1971	0,44	0,30
	448744				
	445735				
90	499809	500389	672	0,13	
	501125				
	500234				
100	557164	558473	2662	0,48	
	561536				
	556719				
110	611275	611535	1841	0,30	
	613492				
	609837				
120	668197	669105	894	0,13	
	669984				
	669135				

Fonte: Autora

Figura 4: Diagrama de dispersão construído com a média das áreas obtidas por CLAE em relação a concentração do preparo.



Fonte: Autora

A Figura 4 expressa a equação da reta ($y = ax + b$): $y = 5563,5x + 851,06$ com coeficiente de determinação (R^2) de 0,99982 e coeficiente de correlação de Pearson 0,99991.

Dessa forma, como o coeficiente de correlação é maior que 0,990 especificado pela RDC nº166 de 2017 (ANVISA, 2020), conclui-se que existe uma relação linear adequada (RIBANI *et al.*, 2004).

Para avaliar a homocedasticidade dos dados foi aplicado o teste de Cochran, apresentando o valor de $C_{calculado}$ 0,454 e $C_{crítico}$ 0,684.

Como $C_{calculado}$ é menor que o $C_{crítico}$, não foi rejeitada a hipótese de igualdade das variâncias ao nível de significância de 5%. Logo, temos um modelo homocedástico, conforme descrito no Guia nº10/ 2017 (ANVISA, 2020).

Para avaliação da significância do coeficiente angular foi utilizado o teste F da ANOVA. Com p-valor de 0,000 do teste F da ANOVA, rejeita-se a hipótese nula ao nível de significância de 5%, portanto, há correlação linear significativa entre as variáveis x e y .

Para avaliação do intercepto (coeficiente linear) foi utilizada a estatística t de Student. Com p-valor de 0,813 do teste t , o coeficiente linear encontrado não é estatisticamente diferente de zero ao nível de significância de 5%.

Para avaliar a independência dos dados foi aplicado o teste de Durbin-Watson. Para obter uma conclusão do teste, é possível comparar os valores exibidos na dos limites superior (DU 1,36054) e inferior (DL 1,07697).

Como o valor encontrado para a estatística do teste D (2,15901) é maior que D_u (1,36054), não foi rejeitada a hipótese de independência das observações ao nível de significância de 5%.

Para avaliar a Normalidade dos dados foi aplicado o teste de Ryan-Joiner, onde o p-valor > 0,100. Sendo assim, não foi rejeitada a hipótese de normalidade dos resíduos ao nível de significância de 5%.

Com base nos resultados expostos, é possível dizer que houve linearidade para a curva de calibração. Sendo assim, as amostras que apresentarem concentrações nesta faixa, mostrarão confiabilidade de seus resultados frente aos padrões.

5.1.3 Precisão

De modo a verificar a existência de diferenças que possam impactar no resultado do método analítico utilizado, foi aplicado o teste de comparações múltiplas para comparação das variâncias. O teste possui a finalidade de demonstrar se uma condição de tratamento apresenta mais variabilidade do que outra e desta forma é possível verificar se o método possui a mesma performance (variabilidade) independente do dia testado ao nível de significância de 5%.

Com base no p-valor encontrado (> 5%) para a comparação das precisões avaliadas, não rejeita-se a hipótese de que as variâncias são iguais. Desta forma o método analítico apresentou precisão satisfatória, pois não demonstrou variabilidade significativa entre a repetibilidade e precisão intermediária e cumpriu com as especificações para o produto em estudo.

O parâmetro de precisão para o método é considerado validado, pois o desvio padrão relativo (DPR) para cada ensaio apresentado é de 0,13%, sendo considerado um desvio baixo entre as médias obtidas em cada dia do ensaio.

5.1.4 Repetibilidade

A Tabela 8 representa os parâmetros analíticos obtidos na validação da metodologia utilizada para quantificação da cefalexina, referente ao teste de repetibilidade, onde foram avaliadas amostras preparadas individualmente em sextuplicata na concentração de 100%, analisadas no mesmo dia sob as mesmas condições de laboratório e equipamentos, cada amostra foi injetada 3 vezes seguidas.

É possível observar os resultados obtidos em cada réplica das amostras preparadas em sextuplicata e análise estatística referente ao teste.

Tabela 8: Avaliação da repetibilidade da quantificação da cefalexina por CLAE utilizando 0,075mg/mL do fármaco.

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5	Amostra 6
Réplica 1	74,35	74,38	74,42	74,41	74,37	74,91
Réplica 2	74,41	74,51	74,66	74,53	74,98	74,93
Réplica 3	74,37	74,65	74,36	74,94	74,62	74,78
Média	74,38	74,51	74,48	74,63	74,66	74,87
DP	0,03	0,13	0,16	0,28	0,30	0,08
DPR	0,04	0,18	0,21	0,37	0,41	0,11
Média das médias				74,59		
DP das médias				0,17		
DPR das médias				0,23%		

Fonte: Autora

Assim sendo, o resultado demonstrou uma repetibilidade do sistema CLAE, tendo em vista o DPR de 0,23%, representando baixa variação entre os resultados, estando abaixo de 2,0% conforme especificado pela RDC nº166 de 2017 (ANVISA, 2020).

5.1.5 Precisão Intermediária

O ensaio de precisão intermediária aplicado para validação parcial de método expressa a proximidade entre os resultados de análises obtidos de uma mesma amostra, contemplando as mesmas concentrações e o mesmo número de determinações descritas na avaliação da repetibilidade, porém em três dias consecutivos.

Na Tabela 9 demonstrou-se a concordância entre os resultados analíticos obtidos com amostras preparadas em sextuplicata durante os dias da realização do teste.

Tabela 9: Avaliação da precisão intermediária da quantificação da cefalexina por CLAE utilizando 0,075mg/mL do fármaco.

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5	Amostra 6
Dia 1	74,83	74,80	74,78	74,96	75,08	74,66
Dia 2	74,66	75,19	74,80	74,51	75,07	74,87
Dia 3	74,89	74,73	74,78	74,74	74,89	75,06
Média	74,79	74,91	74,79	74,74	75,01	74,86
DP	0,12	0,25	0,01	0,23	0,11	0,20
DPR	0,16	0,33	0,02	0,30	0,14	0,27
Média das médias			74,85			
DP das médias			0,10			
DPR das médias			0,13%			

Fonte: Autora

Com os resultados descritos acima, é possível expressar a proximidade entre os resultados obtidos da análise de uma mesma amostra, no mesmo equipamento, e em dias distintos, estando o DPR abaixo de 2,0% conforme especificado pela RDC n°166 de 2017 (ANVISA, 2020).

5.1.6 Exatidão

Representada na Tabela 10, a proximidade entre o valor de concentração teórico e o valor de concentração conhecida do analito. A exatidão foi mensurada a partir três concentrações de amostras: baixa, média e alta analisadas em triplicata em cada nível.

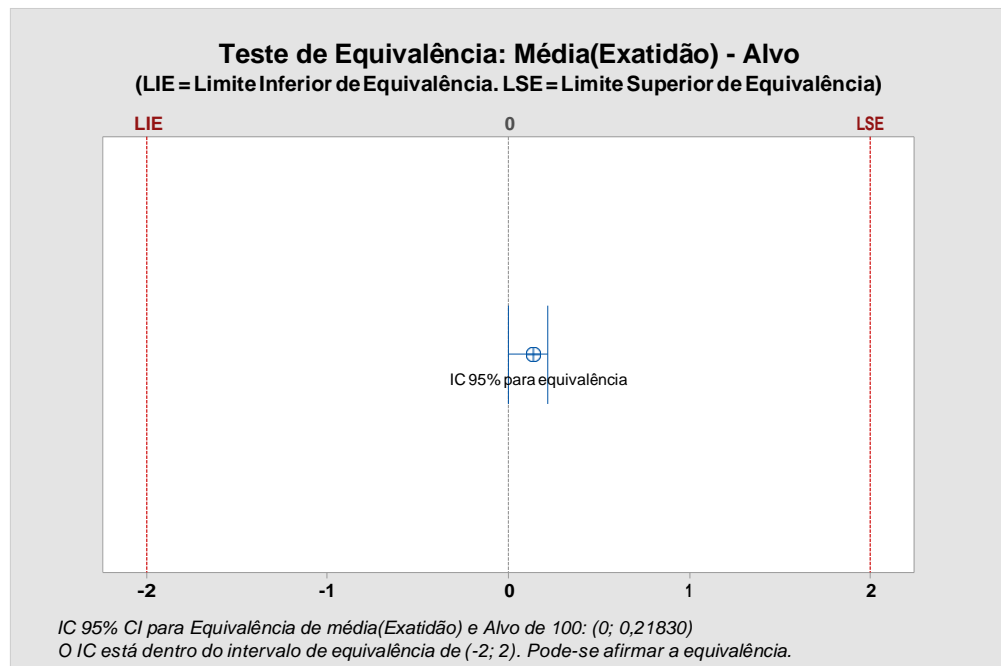
Tabela 10: Valor de concentração teórica e o valor de concentração conhecida do analito para o teste de exatidão.

Concentração Solução (%)	Recuperação (%)	Média (%)	DP	DPR	Média DPR
80	100,16	100,15	0,13	0,13	
	100,01				
	100,27				
100	100,17	100,08	0,09	0,09	0,13
	100,00				
	100,06				
	100,01				
120	100,21	100,2	0,18	0,18	
	100,36				

Fonte: Autora

Para avaliar a equivalência entre a média da exatidão encontrada frente ao valor alvo de 100%, assumindo um intervalo de recuperação de 98% a 102%, foi aplicado o teste de equivalência para uma amostra conforme Figura 5.

Figura 5: Teste de equivalência entre a média da exatidão encontrada frente ao valor alvo de 100%.



Fonte: Autora

Conforme resultados apresentados, o intervalo de confiança para a recuperação da exatidão encontra-se contido no intervalo de equivalência (especificação de recuperação), logo, pode-se afirmar que as recuperações encontradas atendem ao critério de aceitação.

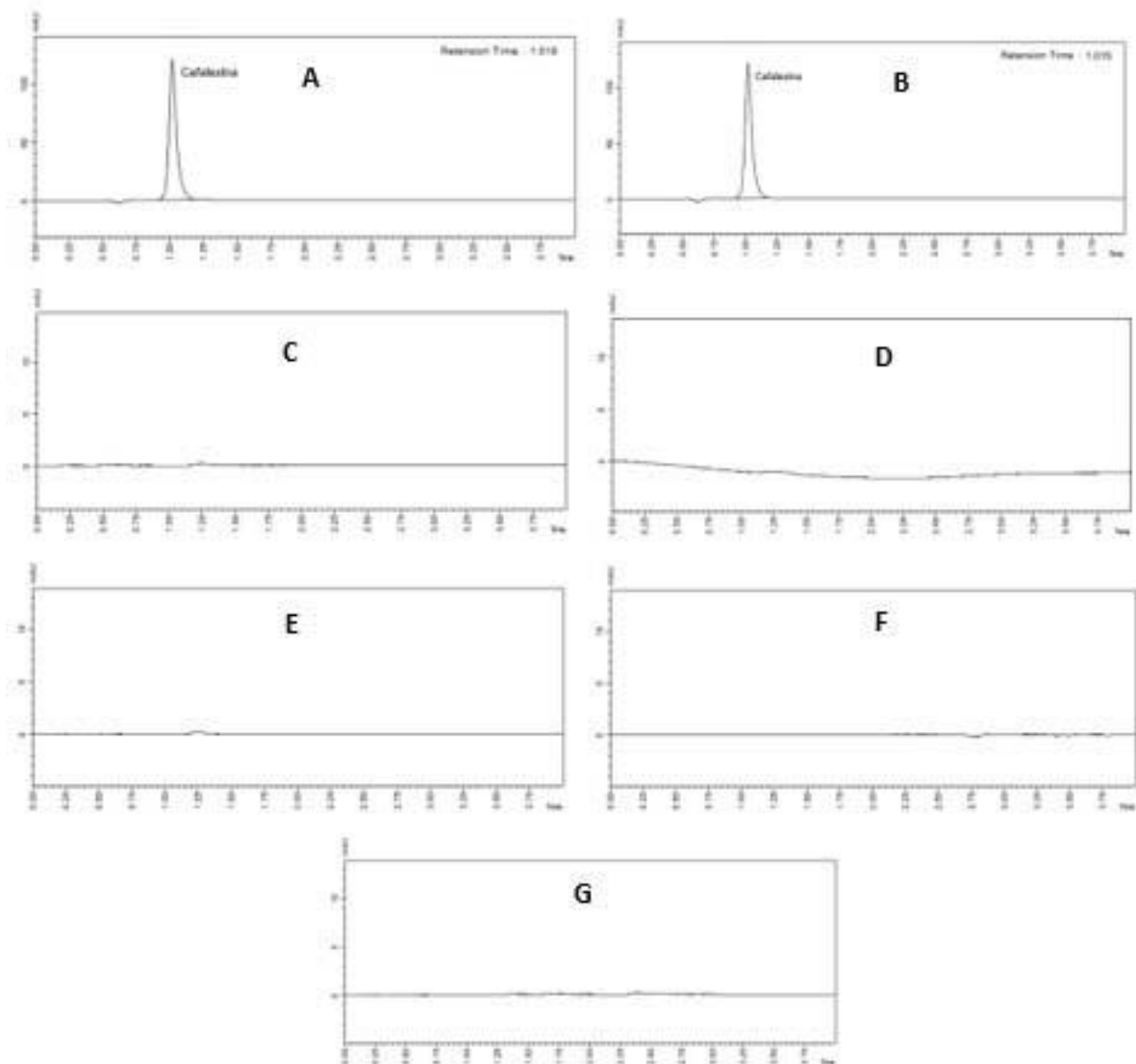
Com base nos resultados expostos, é possível concluir que o método é considerado validado frente aos critérios de exatidão, tendo vista que os resultados das três concentrações se apresentaram de forma uniforme, mantendo a recuperação entre 98% a 102%. Observa-se a existência de proximidade entre o valor de concentração teórica obtida pelo ensaio de linearidade e o valor de concentração conhecida do analito replicado no teste de exatidão.

5.1.7 Seletividade

Para a demonstração de seletividade do método em CLAE e não interferência no tempo de retenção do pico do IFA foram analisados e comparados os cromatogramas com o intuito comprovar a pureza cromatográfica do sinal do analito e identificar qualquer pico que pudesse interferir no tempo de retenção da cefalexina. A especificidade do método foi testada comparando os diferentes cromatogramas obtidos em condições idênticas.

Os cromatogramas representados nas Figuras 6A à 6G, referem-se ao comparativo das linhas de base de padrão de cefalexina, amostra de cefalexina, água ultrapura, fase móvel, Eudragit® E PO e Eudragit® RS e placebo respectivamente, com ausência de ruídos nas linhas de base ou presença de picos secundários. O que demonstra a seletividade do método e garante que o pico de resposta seja exclusivamente da cefalexina.

Figura 6: Cromatograma referente a solução padrão de cefalexina (A), solução amostra de cefalexina (B), injeção de água (C), fase móvel (D), Eudragit® E PO (E), solução de Eudragit® RS (F) e placebo com os componentes da fórmula do produto final (G).



Fonte: Autora

Comparando os cromatogramas apresentados acima, observa-se que o tempo de retenção do pico principal das soluções amostras, corresponde ao mesmo tempo de retenção do pico principal obtido no cromatograma da solução padrão de cefalexina.

Assim como WANG *et al.* (2019) nenhuma interferência oriunda do diluente (água), fase móvel, Eudragit E PO®, Eudragit RS® e placebo foi observada para quantificação do teor tanto dos grânulos de cefalexina quanto do comprimido. Portanto, a metodologia pode ser considerada específica para a quantificação de cefalexina em ambas as análises de teor por CLAE.

5.2 QUANTIFICAÇÃO DA CEFALEXINA NOS GRÂNULOS REVESTIDOS COM EUDRAGIT® POR CLAE

A recuperação do padrão e quantificação do teor dos grânulos de cefalexina revestida, ocorreu por análise em CLAE e calculados através da fórmula para cálculo de teor segundo United States Pharmacopeia– USP 42 ed., descrita no item 4.2.3, levando em consideração a pureza do padrão de cefalexina de 99,8% estabelecido pelo fabricante.

Foram analisadas as amostras revestidas em concentrações de Eudragit® E PO e Eudragit® RS de 80%, 85% e 90%, com os resultados apresentados nas Tabelas 11 e 12.

Tabela 11: Teor de cefalexina dos grânulos de revestidos com Eudragit® E PO.

Amostra Eudragit® E PO	Teor (%)
Amostra 1 80%	21,98
Amostra 2 80%	86,41
Revestimento Total	64,43
Amostra 1 85%	19,70
Amostra 2 85%	90,38
Revestimento Total	71,14
Amostra 1 90%	19,59
Amostra 2 90%	95,36
Revestimento Total	75,77

Fonte: Autora

Tabela 12: Teor cefalexina dos grânulos revestidos com Eudragit® RS.

Amostra Eudragit® RS	Teor (%)
Amostra 1 80%	21,76
Amostra 2 80%	83,69
Revestimento Total	61,93
Amostra 1 85%	20,68
Amostra 2 85%	87,64
Revestimento Total	66,96
Amostra 1 90%	17,47
Amostra 2 90%	88,64
Revestimento Total	71,17

Fonte: Autora

Em virtude dos resultados, foi adotado o preparo com a solução de Eudragit® de ambos os tipos a 90% para o preparo dos grânulos na produção do comprimido. Com isso, foram feitos novos grânulos para a fabricação dos lotes dos comprimidos, nesta concentração utilizando a solução de Eudragit® E PO e Eudragit® RS, a fim de confirmar os resultados obtidos anteriormente, apresentados na Tabela 13.

Tabela 13: Teor cefalexina dos grânulos revestidos com Eudragit® E PO e Eudragit® RS na concentração de 90%.

Amostra 90% Eudragit®	Teor (%)
Amostra 1 Eudragit® E PO	11,43
Amostra 2 Eudragit® E PO	91,85
Revestimento Total	80,42
Amostra 1 Eudragit® RS	15,73
Amostra 2 Eudragit® RS	91,79
Revestimento Total	76,06

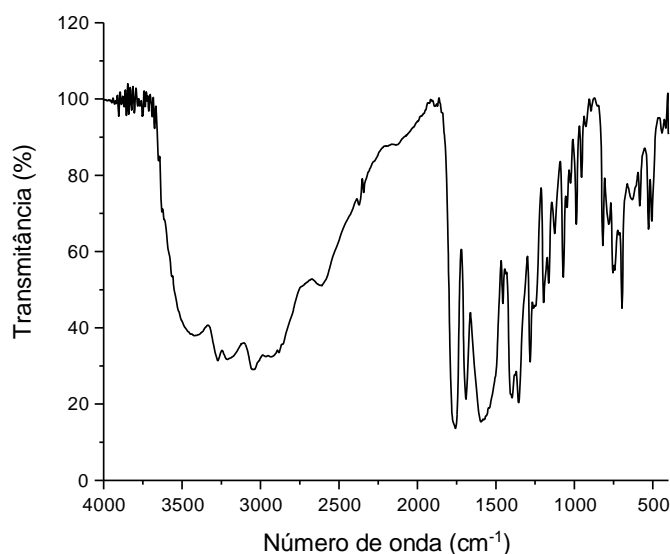
Fonte: Autora

O revestimento da cefalexina por granulação úmida, utilizando Eudragit® E PO e Eudragit® RS como agentes de revestimento, é um processo inovador, não encontrado em literaturas até o momento da finalização deste trabalho.

5.3 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

O espectro da cefalexina representado pela Figura 7 apresentou banda larga centrada em $3630\text{-}2609\text{ cm}^{-1}$ atribuída ao estiramento O-H de ácido carboxílico. Observa-se também picos em 1757 e 1689 cm^{-1} correspondentes ao estiramento C=O de lactama (amida cíclica) e de ácido carboxílico conjugado, respectivamente. O sinal forte em 1595 cm^{-1} é decorrente do dobramento N-H da amida secundária. Os picos em 1454 , 1406 e 1354 cm^{-1} são provenientes do estiramento C=C do anel aromático. Em 1280 e 1259 cm^{-1} observa-se sinais referentes ao estiramento C-O e em 1193 , 1163 e 1124 cm^{-1} sinais atribuídos ao estiramento C-N. Os picos em 1070 , 987 , 952 , 817 , 754 e 696 cm^{-1} representam o dobramento =C-H. E por fim, em 630 cm^{-1} observa-se o sinal referente ao estiramento C-S (PAVIA *et al.*, 2010; GANESHVAR *et al.*, 2015).

Figura 7: Espectro de cefalexina caracterizada por Infravermelho.

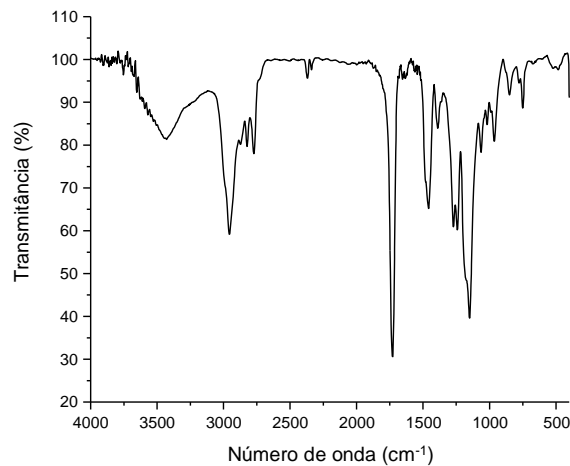


Fonte: Autora

O espectro do Eudragit® E PO, demonstrado pela Figura 8 apresentou banda larga centrada em $3591\text{-}3302\text{ cm}^{-1}$ atribuída ao estiramento O-H, indicando a presença de água na amostra. Observou-se também picos em 2956 , 2872 , 2823 e 2769 cm^{-1} atribuídos ao estiramento $C_{sp^3}\text{-H}$. O sinal observado em 1728 cm^{-1} é corresponde ao estiramento C=O de éster. O pico em 1458 cm^{-1} é decorrente do dobramento do grupo

CH₂. Em 1388, 1271 e 1242 cm⁻¹ observa-se os sinais provenientes do estiramento C-O do éster, e em 1149 cm⁻¹ verifica-se o sinal atribuído ao estiramento C-N da amina terciária (PAVIA *et al.*, 2010; LIN *et al.*, 2011).

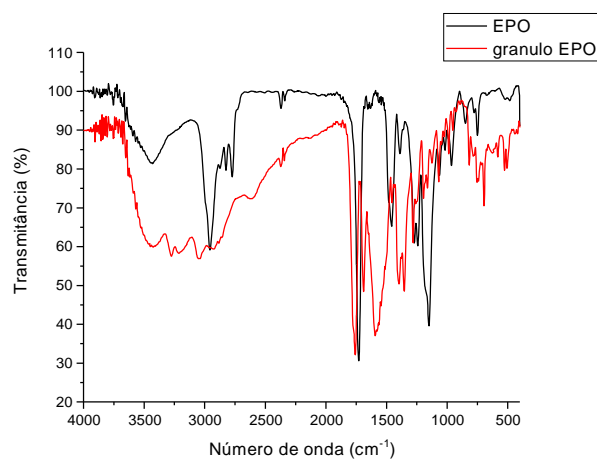
Figura 8: Espectro de Eudragit® E PO caracterizada por Infravermelho.



Fonte: Autora

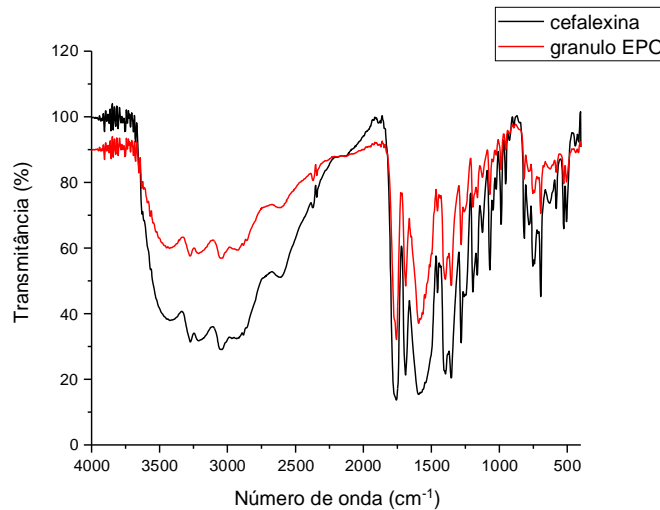
As Figura 9 reflete o espectro de cefalexina revestida com Eudragit® E PO sobreposta por espectro de Eudragit® E PO puro. Figura 10 ilustra a sobreposição dos espectros de grânulo de cefalexina revestida com Eudragit® E PO sobreposta por espectro de cefalexina pura.

Figura 9: Espectro de infravermelho de grânulo de cefalexina revestida com Eudragit® E PO sobreposta por espectro de Eudragit® E PO puro.



Fonte: Autora

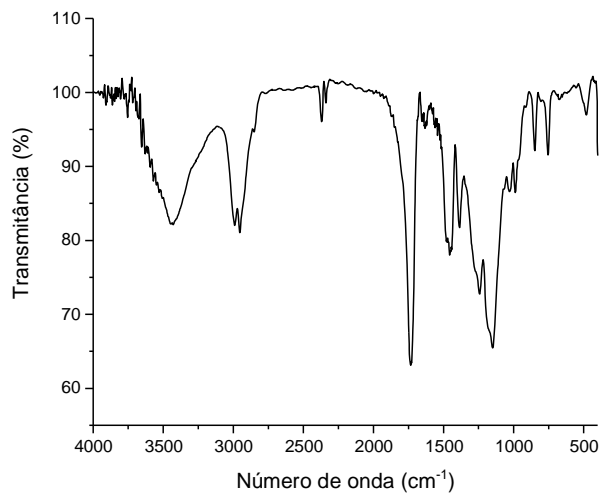
Figura 10: Espectro de infravermelho de grânulo de cefalexina revestida com Eudragit® E PO sobreposta por espectro de cefalexina pura.



Fonte: Autora

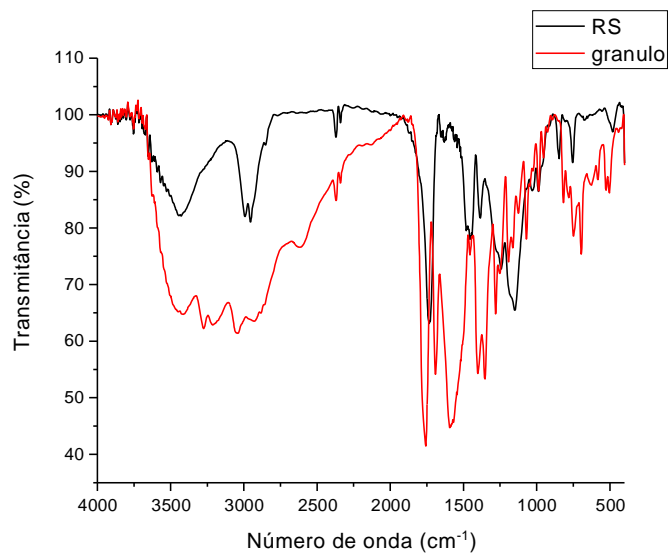
O espectro do Eudragit® RS (Figura 11), apresentou banda larga centrada em 3593-3290 cm⁻¹ atribuída ao estiramento O-H, indicando a presença de água na amostra. Observou-se também picos em 2991, 2953 e 2850 cm⁻¹ atribuídos ao estiramento Csp³-H. O sinal observado em 1734 cm⁻¹ é corresponde ao estiramento C=O de éster. O pico em 1456 cm⁻¹ é decorrente do dobramento do grupo CH₂. Em 1384 cm⁻¹ observa-se o sinal proveniente do estiramento C-O do éster, e em 1247 e 1149 cm⁻¹ verificam-se os picos atribuídos ao estiramento C-N da amina quaternária (PAVIA et al., 2010; DESHMUKH, MUJUMDAR, NAIK, 2018). A Figura 12 é a demonstração dos espectros de grânulo de cefalexina revestida com Eudragit® RS sobreposta por espectro de Eudragit® RS puro e a Figura 13 refere-se ao espectro de grânulo de cefalexina revestida com Eudragit® RS sobreposta por espectro de cefalexina pura.

Figura 11: Espectro de infravermelho de Eudragit® RS.



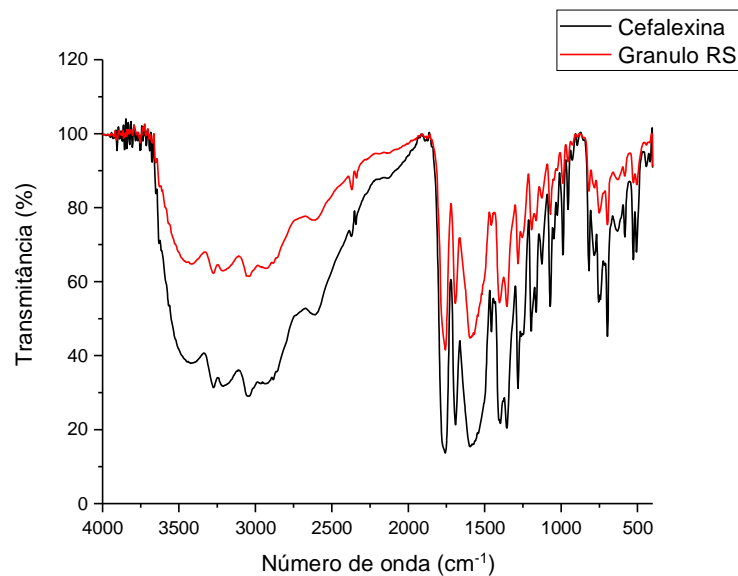
Fonte: Autora

Figura 12: Espectro de infravermelho de grânulo de cefalexina revestida com Eudragit® RS sobreposta por espectro de Eudragit® RS puro.



Fonte: Autora

Figura 13: Espectro de infravermelho de grânulo de cefalexina revestida com Eudragit® RS sobreposta por espectro de cefalexina pura.



Fonte: Autora

O ensaio de Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) para a cefalexina, representado na Figura 7, demonstra autenticidade do IFA cefalexina monohidrata, comparando as características de absorção encontrada com as descritas por PAVIA *et al.* (2010) e LIN *et al.* (2011).

Conforme Figuras 9 e 10, onde há sobreposição do espectro do grânulo de cefalexina revestida com Eudragit® E PO com o espectro do polímero puro e sobreposição do espectro do grânulo de cefalexina revestida com Eudragit® E PO e cefalexina pura, respectivamente, é possível observar que espectro de ambos os grânulos revestidos apresentaram bandas semelhantes ao espectro de Cefalexina pura.

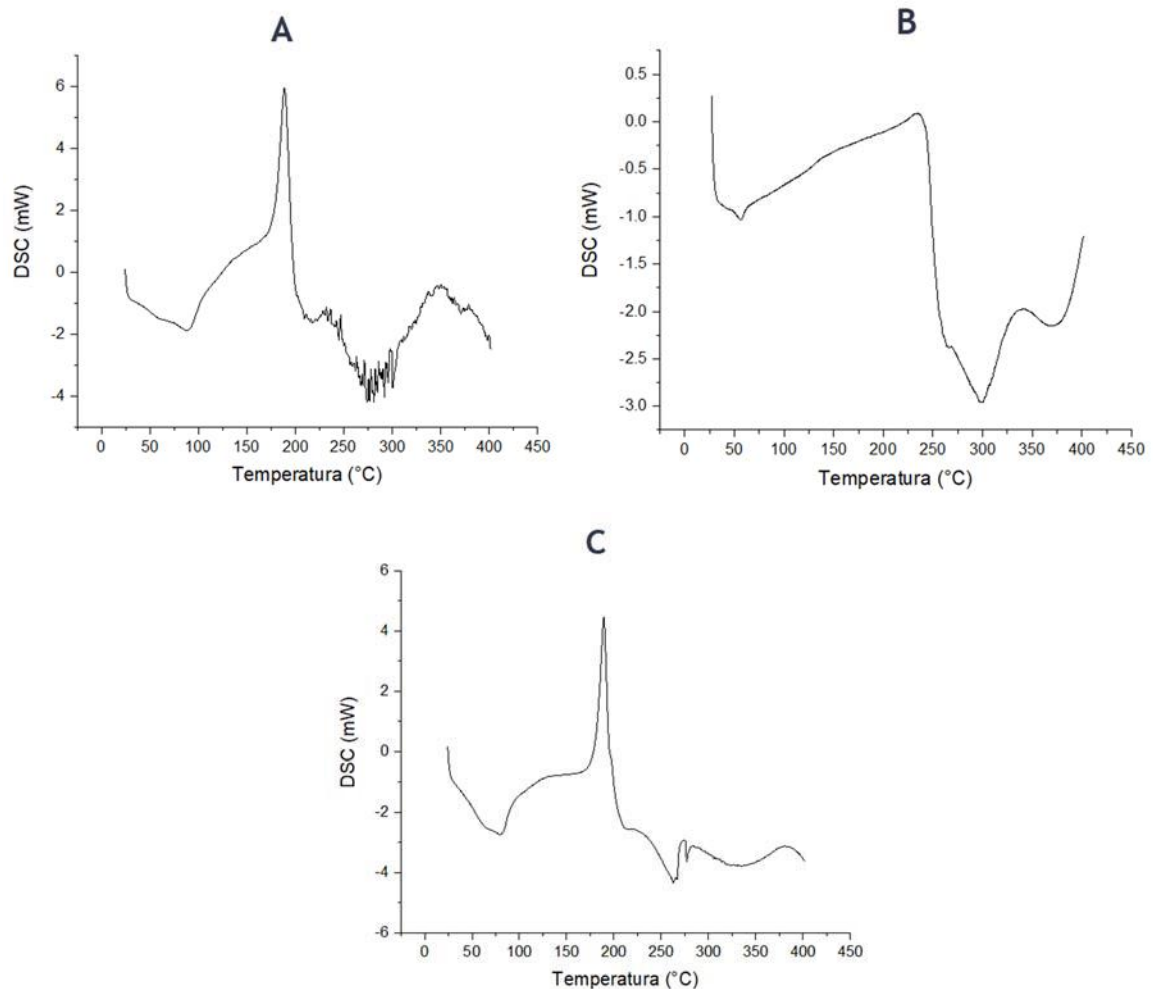
Sahadevan *et al.* (2012) mostrou a semelhança de espectro comparando o espectro da cefalexina substância padrão e uma formulação de comprimidos de cefalexina revestidos com hidroxipropilmetilcelulose. Com a sobreposição dos espectros, ficou evidente a semelhança dos sinais obtidos em cefalexina pura e o comprimido revestido, concluindo que a predominância de bandas da cefalexina, evidencia à compatibilidade química e física entre o medicamento e os excipientes usados na formulação, não demonstrando interação química entre eles.

A caracterização das bandas da cefalexina revestida demonstram ser semelhantes a da cefalexina pura, isso é justificado pelo fato que não houve revestimento total do IFA, confirmando o descrito no teste de quantificação da cefalexina nos grânulos de revestidos com Eudragit®, onde os resultados obtidos foram de 80,42% de revestimento de Eudragit® E PO e 76,06% de revestimento de Eudragit® RS. Assim sendo, ainda há presença de IFA livre, sem revestimento nas amostras analisadas.

5.4 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

A curva de DSC para cefalexina apresentou cinco eventos térmicos, representados na Figura 14A. O primeiro, representado pelo pico endotérmico em 88,73°C pode ser caracterizado por desidratação, o segundo um processo exotérmico em 188,79 °C, que indica a decomposição da cefalexina e o terceiro, endotérmico em 320,11°C indica a fusão do IFA, conforme descrito na literatura da cefalexina em que o ponto de fusão é de 326,8°C, o pico exotérmico em 398,70 °C indica processo de degradação do fármaco (EL-SHATTAWY, KILDSIG, PECK, 1982; VIJAY *et al.*, 2012). Os outros eventos térmicos, picos exotérmicos em aproximadamente 218,09 - 237,87°C e endotérmico em aproximadamente 247,01 - 309,70 °C, não são relatados na literatura e provavelmente são provenientes de impurezas presentes na amostra.

Figura 14: Análises de calorimetria exploratória diferencial de cefalexina (A), Eudradit® E PO (B) e de grânulo de cefalexina revestida com Eudradit® E PO (C).



Fonte: Autora

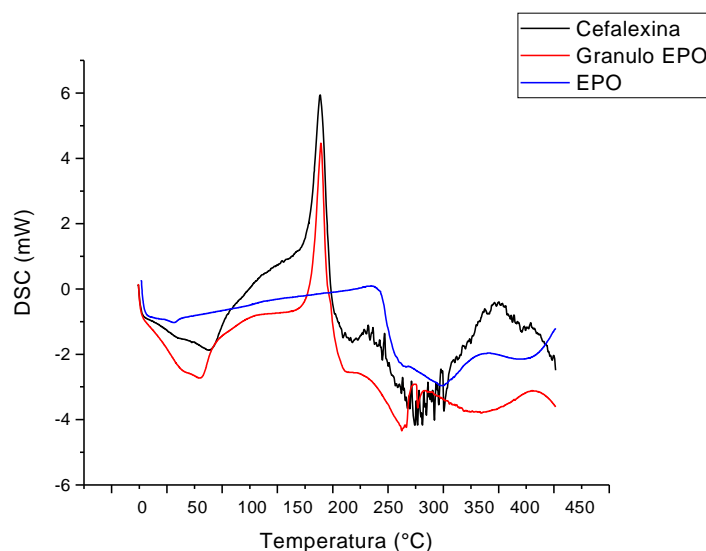
A curva de DSC para Eudragit® E PO apresentou quatro eventos térmicos, representados na Figura 14B. O primeiro, processo endotérmico em 56,20 °C, caracteriza a região de transição vítrea do Eudradit® E PO. O segundo processo, exotérmico em 234,78 °C, não foi relatado na literatura. O terceiro processo, endotérmico em 298,75°C, pode ser atribuído à perda de água por condensação (reações inter ou intramoleculares dos ésteres) que resultou na formação de anidrido carboxílico (LIN, YU, 2000). Os processos endotérmicos em 343,08 - 385,35 °C que podem ser atribuídos à transição da fase amorfa metaestável em fase cristalina mais estável (SINGH, RANA, 2014).

A curva de DSC para o grânulo de cefalexina revestida com Eudradit® E PO, apresentou quatro eventos térmicos representados na Figura 14C. O primeiro,

representado pelo pico endotérmico em 79,65 °C que pode ser caracterizado por desidratação e o segundo, um processo exotérmico em 189,40 °C que indica a decomposição da cefalexina (EL-SHATTAWY, KILDSIG, PECK, 1982; VIJAY *et al.*, 2012). O terceiro e quarto eventos térmicos (262,54 e 276,89 °C), ambos endotérmicos, sugerem uma interação entre a cefalexina e o Eudradit® E PO, devido a mudança no formato dos picos e deslocamento na escala de temperatura de ambos.

A Figura 14C mostra a ausência do pico endotérmico em 320,11°C, característico de fusão da cefalexina, sugerindo que o fármaco foi revestido pelo polímero Eudragit® E PO no ensaio de DSC, enquanto que os resultados de FTIR mostrados anteriormente, demonstraram revestimento parcial do IFA. Medeiros *et al.* (2019) microencapsularam a rutina com conjugado polimérico de pectina/ caseína por coacervação complexa. Após análise por DSC da rutina livre e microencapsulada puderam observar que no termograma em que o fármaco foi revestido com o conjugado polimérico, o pico endotérmico em que indicava a fusão do IFA não foi detectado, assim, os autores sugeriram que o processo de microencapsulação foi eficiente como revestimento da substância ativa.

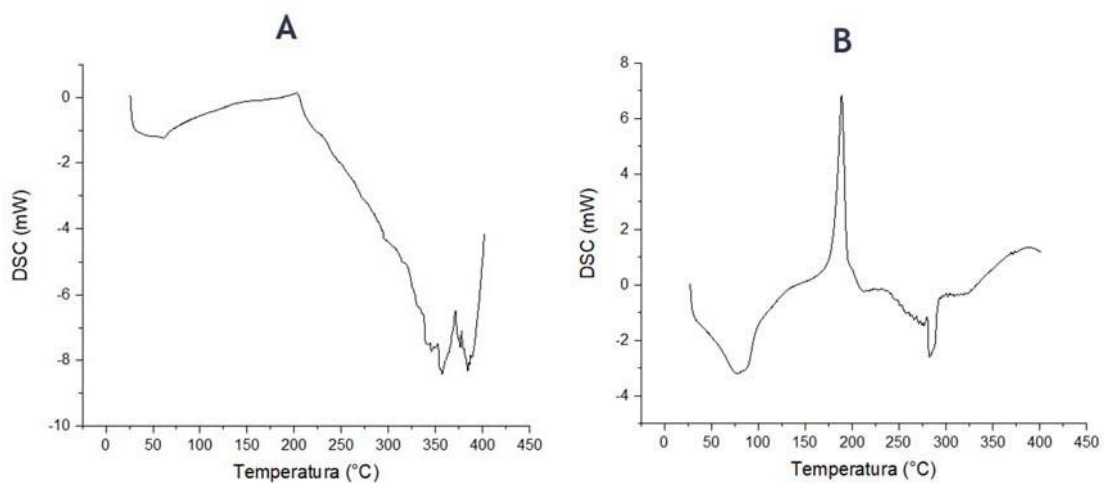
Figura 15: Análises de calorimetria exploratória diferencial sobrepostas de cefalexina pura, grânulos de cefalaxina revestida com Eudragit® E PO e Eudragit® E PO puro.



Fonte: Autora

A curva de DSC para Eudragit® RS apresentou quatro eventos térmicos, representados na Figura 16A. O primeiro, processo endotérmico em 60,80°C que caracteriza a região de transição vítrea do Eudradit® RS. O segundo processo, exotérmico em 202,41 °C, não foi relatado na literatura. Os dois últimos processos, ambos endotérmicos em 357,08 e 384,28 °C que podem ser atribuídos à transição da fase amorfa metaestável em fase cristalina mais estável (SINGH, RANA, 2014).

Figura 16: Análises de calorimetria exploratória diferencial do Eudragit® RS (A) e de grânulo de cefalexina revestida com Eudragit® RS (B).

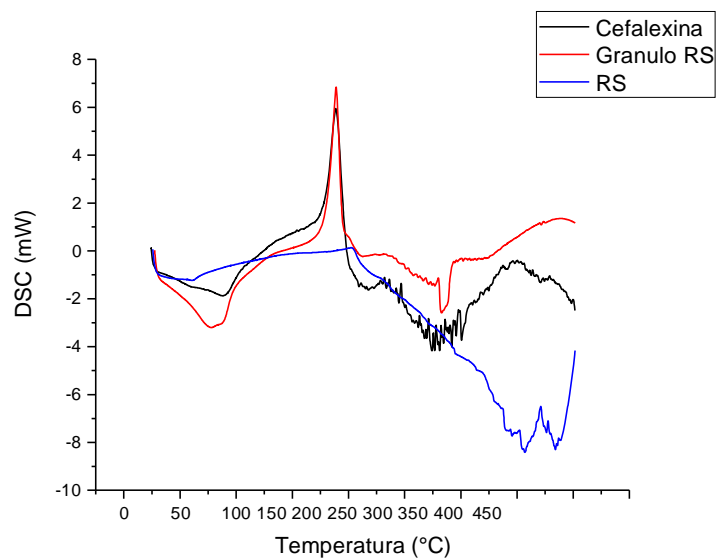


Fonte: Autora

A curva de DSC para o grânulo de cefalexina revestida com Eudragit® RS apresentou três eventos térmicos, representados na Figura 16B. O primeiro, representado pelo pico endotérmico em 77,99 °C, pode ser caracterizado por desidratação e o segundo, um processo exotérmico em 188,97 °C, indica a decomposição da cefalexina (EL-SHATTAWY, KILDSIG, PECK, 1982; VIJAY *et al.*, 2012). O terceiro evento térmico endotérmico, em 243,51-293,50 °C, sugere uma interação entre a Cefalexina e o Eudragit® RS, devido ao deslocamento na escala de temperatura para a esquerda, o que também indica que o polímero aumenta a estabilidade térmica do fármaco, devido a ausência de processo exotérmico em 320,11 - 398,70 °C, que indicaria a degradação do IFA. Conforme relatado para a Figura 14C, em que o pico de fusão da cefalexina em 326,8°C não é detectado, o mesmo acontece com o revestimento da cefalexina com e Eudragit® RS (Figura 16B), sugerindo o revestimento do IFA. A Figura 17 reflete a sobreposição de análise térmica de cefalexina pura, grânulos de cefalexina revestida com Eudragit® RS e Eudragit®

RS puro de forma comparativa, sendo que as curvas apresentadas na Figura 17, foram discutidas na Figura 16.

Figura 17: Análises de calorimetria exploratória diferencial sobrepostas de cefalexina pura, grânulos de cefalexina revestida com Eudragit® RS e Eudragit® RS puro.



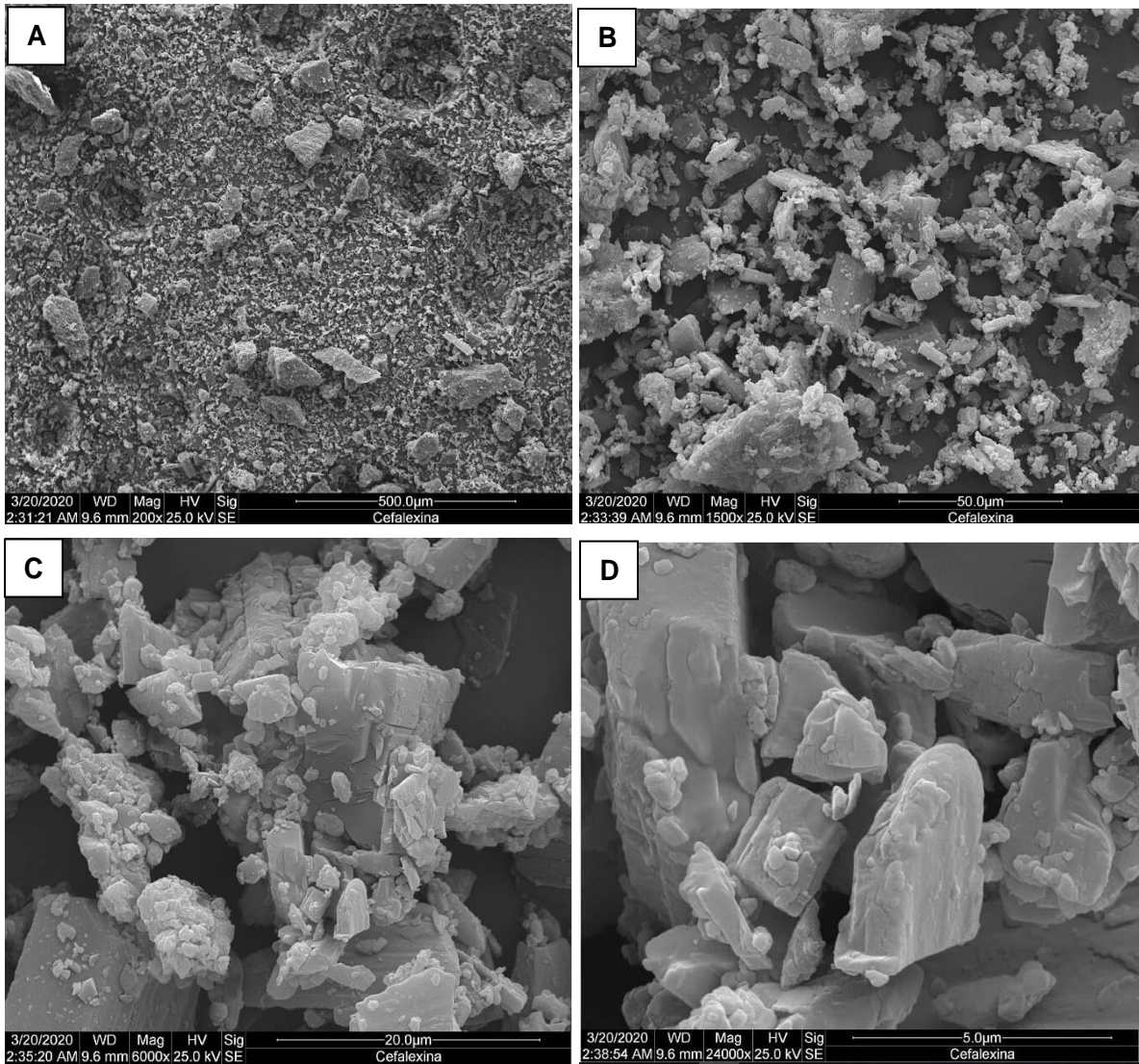
Fonte: Autora

5.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Após o processo de granulação da cefalexina com Eudragit® E PO e Eudragit® RS, foram realizadas microscopias eletrônicas de varredura, a fim de identificar a morfologia dos grânulos e dos materiais usados em seu preparo, assim foi realizada MEV de cada composto separadamente.

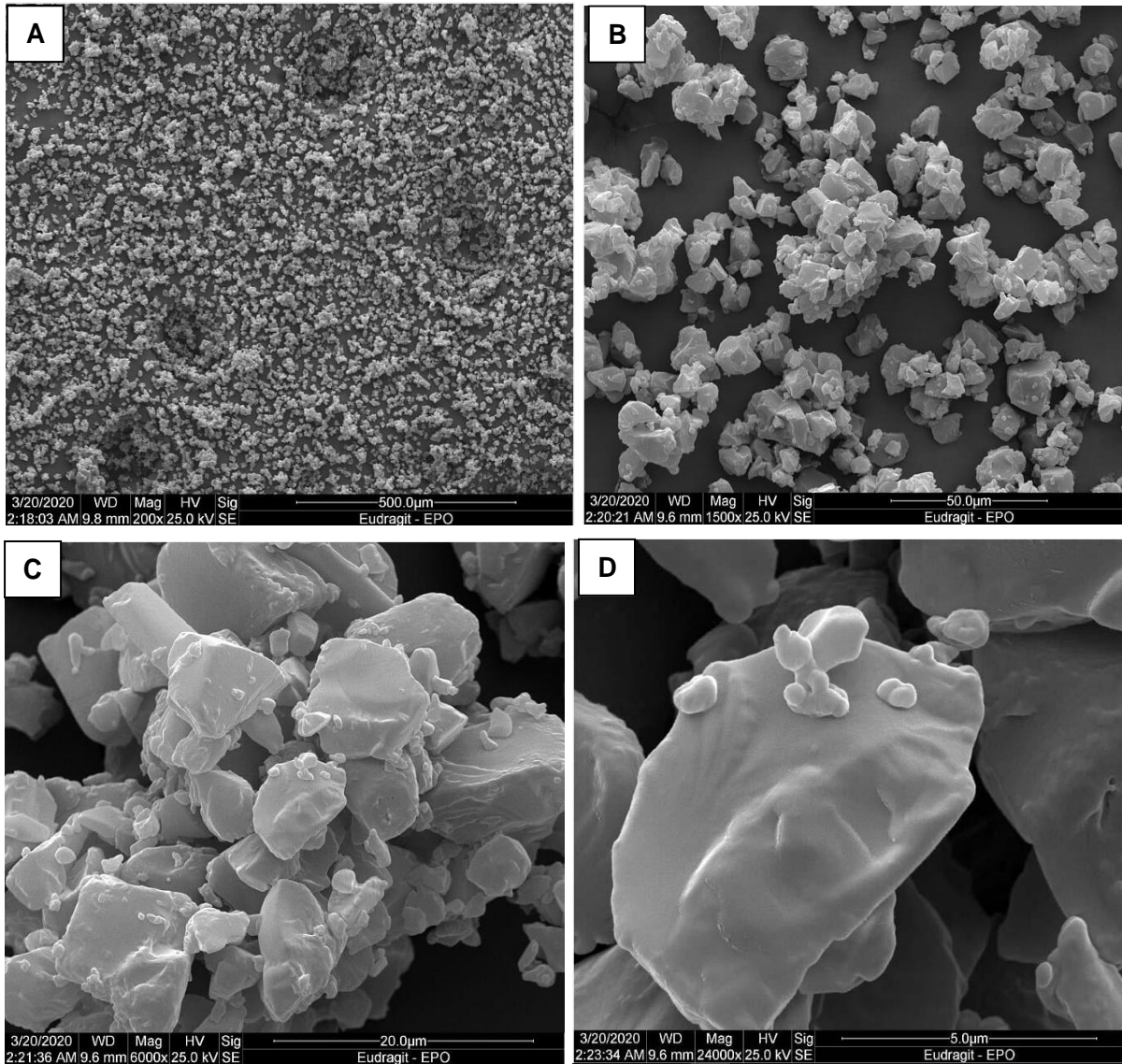
As fotomicrografias obtidas de cefalexina, Eudragit® E PO, Eudragit® RS, grânulo de cefalexina revestida com Eudragit® E PO e grânulo de cefalexina revestida com Eudragit® RS, estão representados nas Figuras 18, 19, 20, 21 e 22, respectivamente.

Figura 18: Fotomicrografia por MEV cefalexina, aumento de (A) 200, (B) 1500, (C) 6000 e (D) 24000 vezes.



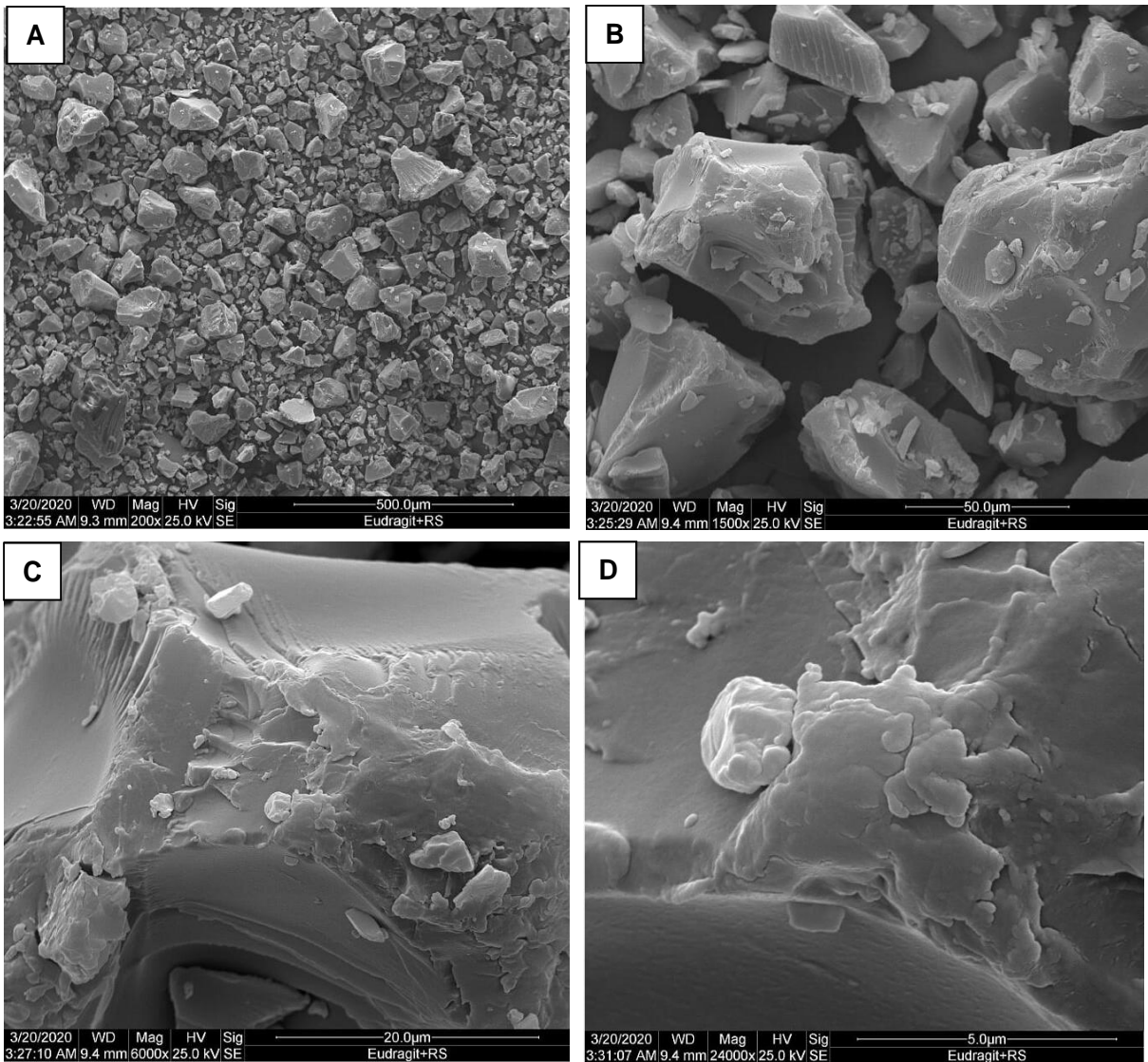
Fonte: Autora

Figura 19: Fotomicrografia por MEV de Eudragit® E PO, aumento de (A) 200, (B) 1500, (C) 6000 e (D) 24000 vezes.



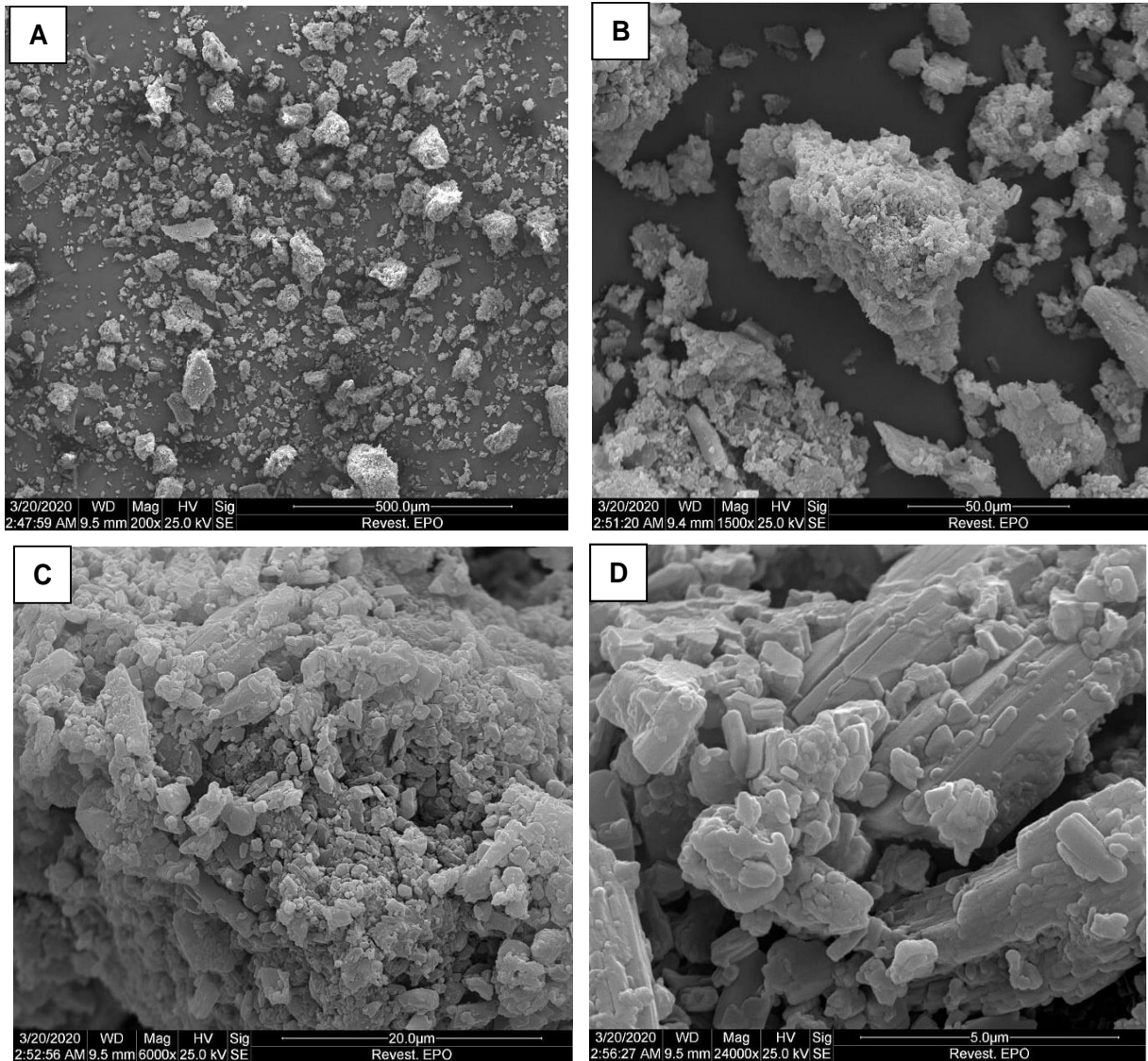
Fonte: Autora

Figura 20: Fotomicrografia por MEV de Eudragit® RS, aumento de (A) 200, (B) 1500, (C) 6000 e (D) 24000 vezes.



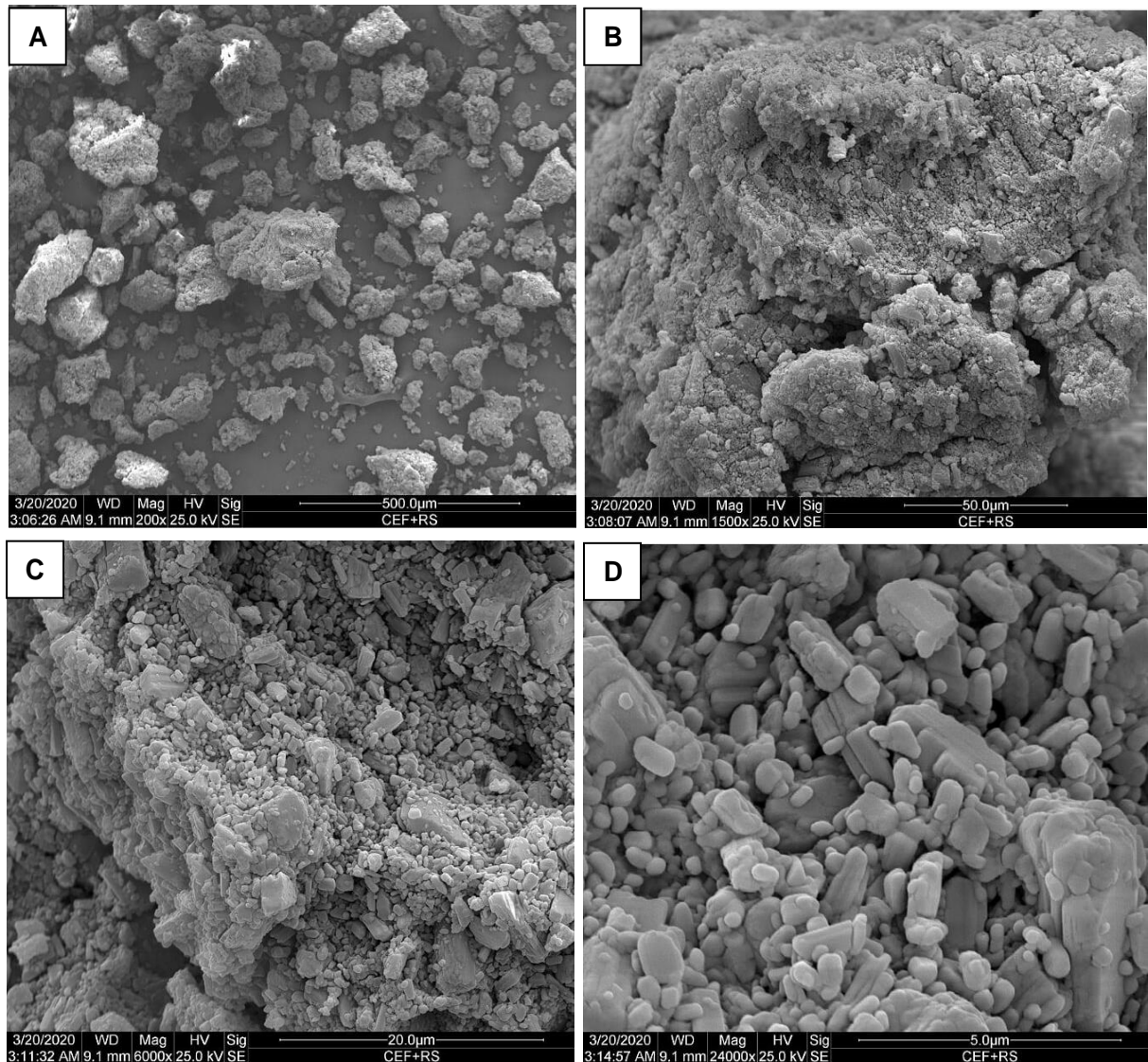
Fonte: Autora

Figura 21: Fotomicrografia por MEV de grânulo de cefalexina revestida com Eudragit® E PO, aumento de (A) 200, (B) 1500, (C) 6000 e (D) 24000 vezes.



Fonte: Autora

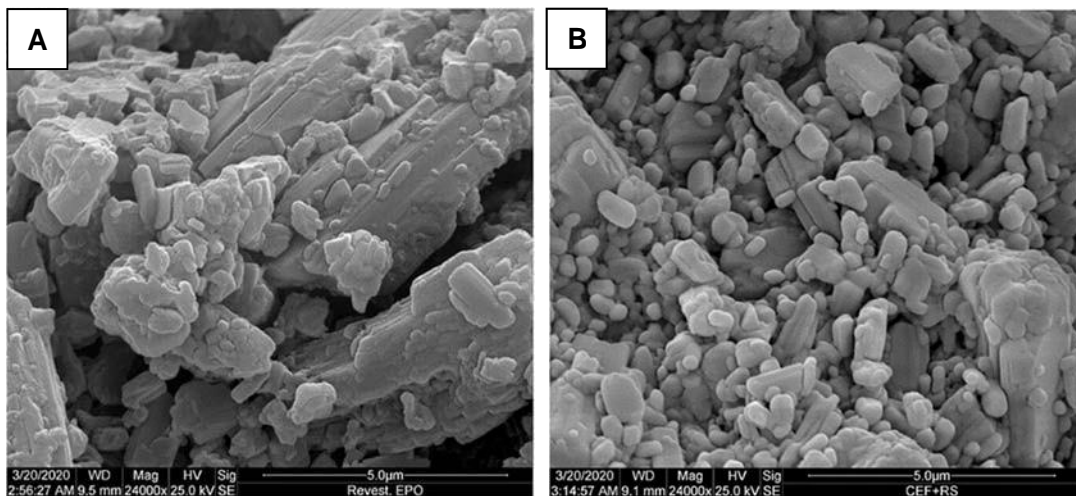
Figura 22: Fotomicrografia por MEV de grânulo de cefalexina revestido com Eudragit® RS, aumento de (A) 200, (B) 1500, (C) 6000 e (D) 24000 vezes.



Fonte: Autora

Ao analisar os resultados obtidos com a MEV, pode-se observar que os grânulos de cefalexina revestida com Eudragit® E PO (Figura 21), são maiores e menos uniformes quando comparados aos grânulos de Eudragit® RS e cefalexina (Figura 22). Na figura 23 é possível observar as fotomicrografias dos grânulos de cefalexina revestida com Eudragit® E PO e Eudragit® RS no mesmo aumento, de forma comparativa.

Figura 23: Fotomicrografia por MEV de grânulos de cefalexina revestida com Eudragit® E PO (A) e Eudragit® RS (B) com aumento de 24000 vezes.



Fonte: Autora

Akhgari e Tavakol (2016) utilizaram a combinação de Eudragit® RS e etilcelulose na formação de sistema de revestimento para pellets de teofilina de liberação sustentada e compararam os resultados frente a um filme produzido com Eudragit® RL. Testaram os filmes quanto a resistência de transmissão do vapor de água. A partir dos resultados obtidos ficou evidenciado pelas fotomicrografias por MEV, que o aumento da espessura do filme aplicado permitiu a integridade dos pellets por mais tempo, além disso, a partir da comparação da estrutura de Eudragit® RS e Eudragit® RL, os autores demonstraram que Eudragit® RS é mais hidrofóbico do que Eudragit® RL devido à menor quantidade de grupos de amônio quaternário em sua estrutura e, portanto, apresenta à menor tendência de permeação de vapor de água através do filme formado por ele.

Esse contexto, evidencia que estrutura química dos polímeros influencia a capacidade de ligação e diferentes resultados, devido as propriedades do polímero escolhido para o filme (SOLOMONS, 2018). Onde, Eudragit® E PO possui radical

menor em relação ao Eudragit® RS, facilitando a ligação da molécula de cefalexina ao polímero devido ao menor impedimento estérico. Esse fato justifica a maior porcentagem de cefalexina revestida nos grânulos quando utilizado o E PO (80,42%) em comparação ao RS (76,06%).

5.6 CONTROLE EM PROCESSO

5.6.1 Peso Médio

Foi determinado o peso médio de 20 comprimidos para cada tempo de amostragem durante toda a produção, pesados individualmente, expressos em unidade de mg conforme Tabelas 14 e 15.

Tabela 14: Peso médio referente a dez tempos (T) de amostragem de comprimidos produzidos utilizando grânulos de cefalexina revestida com Eudragit® E PO.

Lote	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10
1	182	181	179	178	180	180	179	179	179	182
2	177	179	178	178	178	179	184	181	178	178
3	178	178	178	182	178	178	177	179	178	179
4	180	177	180	178	179	179	180	179	178	181
5	179	178	179	177	180	178	178	178	178	179
6	179	179	177	178	178	180	184	178	178	179
7	179	178	178	179	178	179	179	179	178	179
8	178	178	180	181	177	178	179	177	179	179
9	178	178	178	179	178	178	177	178	177	179
10	178	179	178	179	177	183	177	180	179	178
11	181	177	177	180	177	178	179	179	179	178
12	177	178	178	179	175	179	179	178	179	180
13	178	180	179	178	179	178	179	178	178	179
14	179	178	179	178	178	178	178	178	177	178
15	178	178	178	182	179	181	179	178	178	178
16	183	179	178	177	179	179	178	179	177	180
17	180	183	177	179	178	179	179	178	177	179
18	179	175	183	179	178	177	180	177	179	178
19	178	179	179	179	179	177	180	181	178	179
20	181	178	180	183	179	178	178	178	179	180
Média do Lote	179	179	179	179	178	179	179	179	178	179

Fonte: Autora

Tabela 15: Peso médio referente a dez tempos (T) de amostragem de comprimidos produzidos utilizando grânulos de cefalexina revestida com Eudragit® RS.

Lote	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10
1	178	178	179	179	177	178	179	179	178	177
2	178	177	178	178	179	178	177	178	179	178
3	177	177	179	177	178	177	179	179	179	179
4	178	177	176	178	179	178	178	178	178	176
5	177	178	179	177	178	176	178	177	177	178
6	178	174	177	178	174	178	178	178	178	177
7	179	179	178	179	179	178	176	179	174	178
8	177	178	179	179	178	177	177	178	179	178
9	178	178	177	178	179	177	178	179	178	176
10	179	178	177	178	178	177	179	178	177	177
11	176	179	177	178	178	179	178	176	177	178
12	179	178	179	179	178	179	178	178	177	178
13	179	179	178	177	179	178	177	178	179	177
14	179	178	177	179	178	179	179	177	179	179
15	178	179	178	176	179	178	179	178	179	178
16	175	177	179	175	178	179	177	179	177	179
17	179	176	178	179	178	178	177	177	177	178
18	178	179	179	178	179	177	178	177	178	179
19	177	178	179	177	179	178	178	179	178	178
20	178	178	178	178	178	177	177	179	179	178
Média do Lote	178	178	178	178	178	178	178	178	178	178

Fonte: Autora

Conforme Farmacopeia Brasileira, 6ª edição, os comprimidos não revestidos com peso unitário maior que 80 mg e menor que 250mg possuem limite de variação de $\pm 7,5\%$ do peso teórico, sendo que é permitida a tolerância de não mais que duas unidades fora dos limites especificados. O valor teórico é de 180mg, podendo variar entre o limite mínimo de 166,5mg e o limite máximo de 193,5mg. Conforme os valores descritos nas Tabelas 14 e 15 para as formulações com Eudragit® RS e Eudragit® E PO respectivamente, os pesos dos comprimidos estão dentro dos critérios acima descritos.

5.6.2 Dureza

O teste foi realizado com 10 comprimidos a cada tempo de amostragem para cada formulação, eliminando qualquer resíduo superficial antes de cada determinação. Os comprimidos foram testados, individualmente, obedecendo sempre à mesma orientação e os resultados expressos em Newton (N) conforme Tabelas 16 e 17.

Tabela 16: Dureza referente a dez tempos (T) de amostragem de comprimidos produzidos utilizando grânulos de cefalexina revestidos com Eudragit® E PO.

Lote	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10
1	63	59	65	62	58	61	57	60	60	59
2	59	60	60	58	55	56	62	59	58	59
3	55	58	59	55	63	61	64	62	57	57
4	64	55	62	63	55	58	60	59	61	60
5	59	63	62	57	63	58	59	60	57	58
6	55	60	57	61	60	60	60	59	59	61
7	60	59	55	57	59	55	58	62	60	61
8	61	60	62	59	57	62	57	60	59	59
9	56	62	60	59	59	60	58	55	57	63
10	60	55	53	61	57	60	58	62	60	58
Média do Lote	59	59	60	59	59	59	59	60	59	60
Média dos Tempos	59N									

Fonte: Autora

Tabela 17: Dureza referente a dez tempos (T) de amostragem de comprimidos produzidos utilizando grânulos de cefalexina revestida com Eudragit® RS.

Lote	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10
1	56	58	55	61	62	57	55	58	55	54
2	55	60	57	54	52	55	62	56	57	58
3	62	53	59	58	55	57	52	60	59	56
4	52	61	54	58	57	59	52	59	55	60
5	55	54	58	56	55	57	55	58	56	59
6	57	58	56	60	52	58	57	57	59	58
7	59	56	60	59	61	56	55	59	55	57
8	57	60	59	57	56	60	61	55	53	56
9	61	52	57	60	54	55	57	58	60	54
10	56	59	61	54	58	57	59	59	55	58
Média	57	57	58	58	56	57	57	58	56	57
Média dos Tempos	57N									

Fonte: Autora

Os resultados das médias das determinações de dureza dos dez tempos de amostragem coletados durante a produção de comprimidos com grânulos revestidos com Eudragit® E PO é de 59N, enquanto a média dos dez lotes produzidos com grânulos revestidos com Eudragit® RS, foi de 57N. A Farmacopeia Brasileira 6^a. ed. (ANVISA, 2019), preconiza que o resultado do teste é informativo. Por sua vez, Nagashima *et al.* (2013) descreve que o valor mínimo de dureza recomendado é acima de 30N. Assim sendo, os resultados de dureza obtidos para as formulações, correspondem ao indicado na literatura. A coesão das partículas durante a compactação, pela técnica de compressão direta, foi possível pela adição de Povidona K30® na formulação como agente com propriedade aglutinante, colaborando com os resultados uniformes de peso médio e dureza obtidos durante a compressão.

Rojas *et al.* (2014) desenvolveram um estudo comparativo entre excipientes utilizados na compressão direta, descrevendo que a Povidona K30® presente em uma das formulações, possibilitou uma boa desintegração do comprimido por apresentar boa compactação e porosidade ao produto final. Como resultado, a Povidona K30® apresentou o melhor potencial de compactação e dissolução, alcançando resultados positivos de controle em processo.

Os resultados de peso médio e dureza mostraram estar compatíveis entre os polímeros utilizados. A formulação contendo Eudragit® RS apresentou valores de peso médio e dureza menores quando comparados a formulação preparada com Eudragit® E PO. Esses dados vão ao encontro dos resultados das fotomicrografias por MEV que mostram os grânulos de cefalexina revestida com Eudragit® E PO (Figura 23A) e Eudragit® RS (Figura 23B), em que os grânulos menores obtidos com o Eudragit® RS geraram comprimidos com peso e dureza inferiores e mais uniformes, quando comparado ao Eudragit® E PO.

5.6.3 Friabilidade

Para cada tempo de amostragem coletado durante a produção de comprimidos foi realizado o teste de friabilidade, utilizando 20 comprimidos por tempo sem qualquer resíduo de pó, pesados e submetidos à 100 rotações.

Após as rotações, todos os comprimidos foram pesados novamente, após remoção de qualquer resíduo de pó, calculando a friabilidade de acordo com a Equação 6. As Tabelas 18 e 19 demonstram a diferença entre o peso inicial e o final, onde a friabilidade, é medida em função da porcentagem de pó perdido.

Tabela 18: Friabilidade para dez tempos (T) de amostragem de comprimidos formulados com Eudragit® RS.

	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	T 6	T 7	T 8	T 9	T 10
Peso Inicial (g)	3,560	3,571	3,569	3,575	3,560	3,561	3,563	3,560	3,548	3,568
Peso Final (g)	3,560	3,570	3,567	3,573	3,559	3,559	3,562	3,560	3,545	3,568
Pó perdido (%)	0,0	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,0	0,3	0,0
Média (%)	0,12									

Fonte: Autora

Tabela 19: Friabilidade para dez tempos (T) de amostragem de comprimidos formulados com Eudragit® E PO.

	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	T 6	T 7	T 8	T 9	T 10
Peso Inicial (g)	3,575	3,574	3,568	3,578	3,577	3,568	3,571	3,571	3,576	3,569
Peso Final (g)	3,575	3,573	3,567	3,576	3,572	3,568	3,570	3,571	3,575	3,568
Pó perdido (%)	0,0	0,1	0,1	0,2	0,5	0	0,1	0,0	0,1	0,1
Média (%)	0,10									

Fonte: Autora

A média de perda para os tempos (T) de amostragem produzidos com Eudragit® RS foi de 0,12%. Já para os comprimidos formulados com Eudragit® E PO a perda de peso foi ainda menor, sendo de 0,10%. São considerados aceitáveis os comprimidos com perda igual ou inferior a 1,5% do seu peso conforme preconizados pela Farmacopeia Brasileira 6^a. Edição (ANVISA, 2019), assim sendo, os valores obtidos para ambos os lotes são aceitos para os parâmetros de controle em processo. Os resultados de friabilidade estão coerentes com os resultados obtidos no teste de dureza, enfatizando as propriedades dos excipientes utilizados no desenvolvimento da formulação dos comprimidos com granulado de cefalexina revestido com Eudragit® RS ou Eudragit® E PO.

5.7 DETERMINAÇÃO DE TEOR DOS COMPRIMIDOS

Para a quantificação, foram preparadas amostras em triplicata conforme item 4.2.9, analisadas em CLAE. Os resultados estão expressos nas Tabelas 20 e 21.

Tabela 20: Teor para o comprimido produzido com grânulos de cefalexina revestidos com Eudragit® RS, analisados em triplicata.

Eudragit® RS	Teor (mg)	Teor (%)
Amostra 1	72,23	96,31
Amostra 2	72,47	96,63
Amostra 3	72,95	97,27
Média	72,55	96,73
DP	0,26	
DPR	0,36	

Fonte: Autora

Tabela 21: Teor para o comprimido produzido com grânulos de cefalexina revestida com Eudragit® E PO, analisados em triplicata.

Eudragit® EPO	Teor (mg)	Teor (%)
Amostra 1	73,12	97,49
Amostra 2	73,53	98,04
Amostra 3	73,37	97,83
Média	73,34	97,79
DP	0,21	
DPR	0,28	

Fonte: Autora

Conforme os resultados detalhados acima, é possível expressar a boa performance do processo produtivo dos lotes, tanto para os grânulos revestidos com Eudragit® RS quanto para Eudragit® E PO, tendo em vista a baixa variação de conteúdo dos comprimidos analisados apresentando DPR de 0,36 e 0,26. Além disso, o teor obtido atende à especificação geral de 90 a 110% para o teste de teor da United States Pharmacopeia 42ª edição.

Segundo a Farmacopéia Brasileira 6ª edição, a análise quantitativa de teor de um componente deve ser calculada pela determinação da área do pico como uma porcentagem do total das áreas de todos os picos, excluindo aqueles resultantes de solventes ou reagentes adicionados ao processo do preparo da amostra (ANVISA, 2019). Como descrito nos resultados do ensaio de seletividade para a validação do método de análise, não há interferência ou coeluição de picos (quando mais de um pico é detectado no mesmo tempo de retenção) para as análises de quantificação de cefalexina.

5.8 VARREDURA

Foi realizada verredura para determinar comprimento de onda com máxima absorção de cefalexina nos meios de dissolução água, HCl 0,1M e em mucosa artificial, utilizados no ensaio de perfil de dissolução. Os comprimentos de onda encontrados foram de 262nm em água e em mucosa artificial e 256nm em HCl 0,1M.

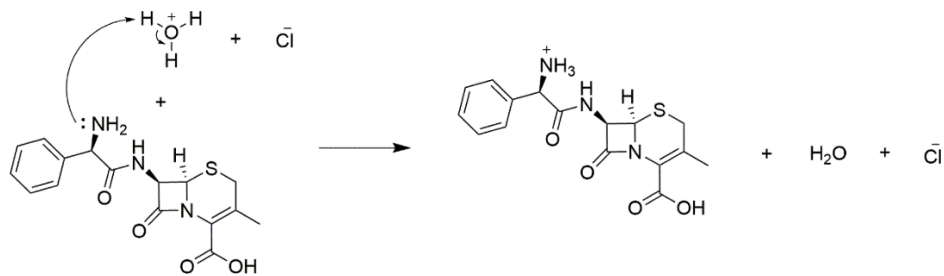
Tanto a Farmacopéia Brasileira, quanto United States Pharmacopeia preconizam o comprimento de onda de 262 nm para a quantificação da cefalexina em água. Com a verredura foi possível observar a variação do comportamento da

cefalexina em meio ácido, onde o comprimento de onda de máxima absorção foi em λ 256 nm.

A variação no comprimento de onda para a absorção da cefalexina em diferentes meios de dissolução, pode ser explicada pela mudança na estrutura química devido ao pH do meio. No meio ácido, ocorre a protonação da molécula, e no meio básico ocorre a desprotonação, e a molécula sofre transferências de carga (positiva ou negativa) de acordo com o meio envolvido. As reações de transferência de carga, incluindo a protonação vêm sendo empregadas há alguns anos para a determinação espectrofotométrica de diferentes princípios ativos presentes em medicamentos (PAULA, 2017).

A protonação é um processo químico em que íons são gerados a partir de reações ácido-base sofridas pela amostra (VESSECCHI, 2008). Esse processo resulta na formação de uma ligação simples onde antes havia um par de elétrons livres, e dessa forma, exige mais energia para excitar a molécula (Figura 24). Como o comprimento de onda é inversamente proporcional a energia de excitação dos elétrons, quanto maior for a energia utilizada na excitação da molécula, menor é o comprimento de onda utilizado no equipamento (PAVIA, 2010).

Figura 24: Representação de protonação na molécula de cefalexina.



Fonte: Autora

Desta forma, a varredura possibilitou a adequação do comprimento de onda utilizado no espectrofotômetro para a quantificação das amostras, com a obtenção de resultado fidedigno do ensaio de perfil de dissolução, uma vez que o comprimento de onda para determinação espectrofotométrica de cefalexina pôde ser classificada de acordo com a reação sofrida pela molécula (PAULA, 2017).

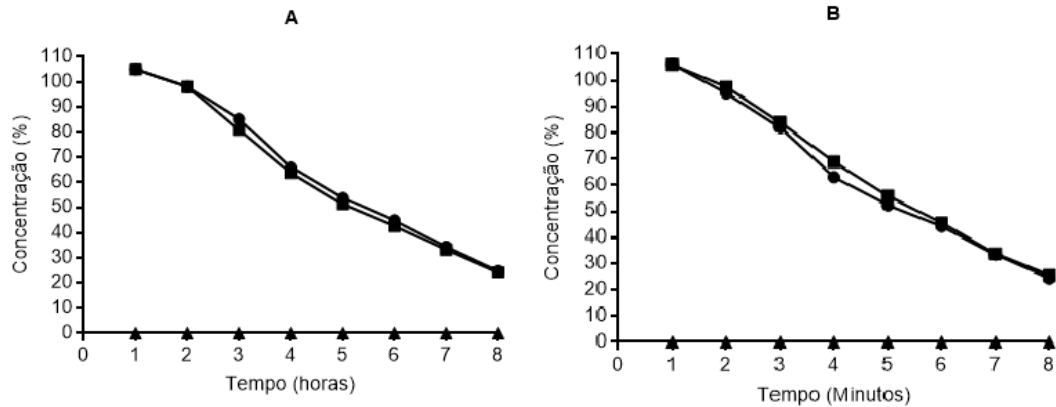
5.9 PERFIL DE DISSOLUÇÃO POR ESPECTROFOTOMETRIA (UV)

Com relação a liberação de cefalexina, tanto a formulação com Eudragit® E PO, quanto a formulação com Eudragit® RS apresentaram máxima concentração e queda na liberação logo após os primeiros 15 minutos de ensaio independente do meio de dissolução.

É possível observar o comportamento de liberação rápida (> 85% em 15 minutos) do princípio ativo em água e mucosa, para ambas as formulações. A princípio foi realizado o perfil de dissolução com coletas a partir de 15 minutos nas primeiras 2 horas de ensaio e após isso, amostras foram coletadas a cada 30 minutos durante as 6 horas de ensaio com água e mucosa artificial.

O perfil de dissolução realizado em mucosa artificial, foi adotado por se tratar de um comprimido para administração em animais, com a possibilidade de ser mastigável ou ainda permanecer na boca do animal por algum tempo. O comportamento decrescente de liberação do IFA durante as 8 horas de ensaio com água e mucosa artificial (Figura 25) e total liberação nos primeiros 15 minutos, foi suficiente para uma nova abordagem, a fim de verificar qual seria o tempo máximo de permanência do medicamento na boca do animal. Em virtude disso, foi realizado um novo ensaio com 15 minutos de duração, com coletas realizadas a cada 2 minutos (Figura 26).

Figura 25: Perfil de dissolução em (A) água e (B) mucosa artificial de comprimido de cefalexina palatável formulado com grânulos revestidos com Eudragit® RS e Eudragit® E PO em porcentagem de fármaco liberado durante 8h de ensaio.



Nota: Curva obtida pela média das amostras analisadas em triplicata para cada formulação.

● Eudragit® RS, ■ Eudragit® E PO, ▲ Placebo.

Fonte: Autora.

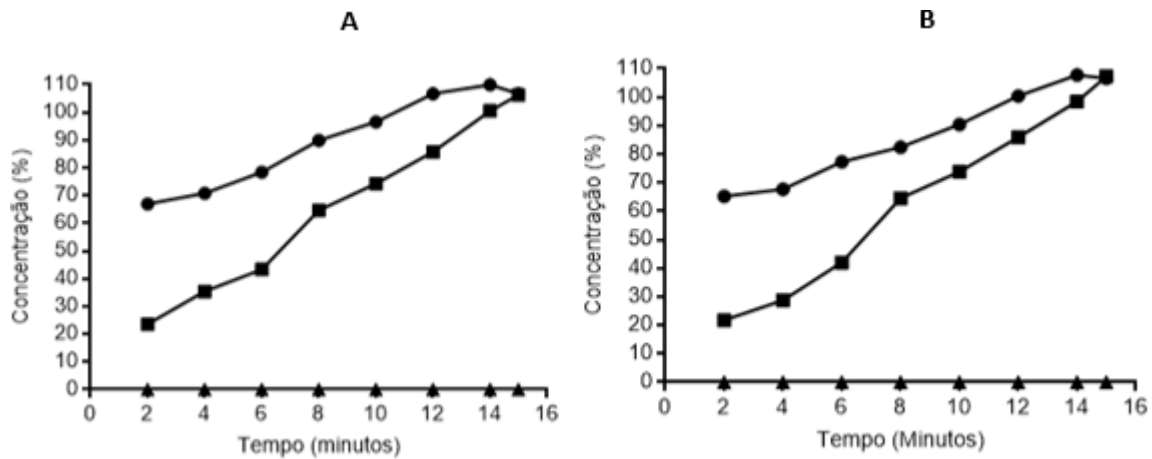
Tabela 22: Perfil de liberação dos revestimentos em água e mucosa artificial em 8 horas de experimento.

Tempo (Horas)	Eudragit® RS(%) Água	DPR (%)	Eudragit® RS(%) Mucosa artificial	DPR (%)	Eudragit® E PO(%) Água	DPR (%)	Eudragit® E PO(%) Mucosa artificial	DPR (%)
1,00	104,92	0,51	106,20	0,58	104,94	1,26	106,12	1,08
2,00	98,15	1,33	95,15	2,45	98,09	1,20	97,56	1,96
3,00	85,21	1,07	81,95	4,62	80,80	1,14	84,02	0,52
4,00	66,03	2,29	63,08	3,60	63,65	1,95	68,87	0,57
5,00	53,87	2,25	52,35	1,87	51,28	1,52	55,89	1,49
6,00	44,85	1,45	44,25	0,87	42,69	1,48	45,62	0,70
7,00	34,20	1,66	33,37	1,28	33,13	0,71	33,76	0,95
8,00	24,78	2,26	24,46	0,90	24,22	1,00	25,55	0,35

Nota: Valores obtidos pela média das amostras analisadas em triplicata para cada formulação.

Fonte: Autora

Figura 26: Perfil de dissolução em (A) água e (B) mucosa artificial do comprimido de cefalexina palatável formulado com grânulos revestidos com Eudragit® RS e Eudragit® E PO durante os primeiros 15 minutos de ensaio.



Nota: Curva obtida pela média das amostras analisadas em triplicata para cada formulação.

● Eudragit® RS, ■ Eudragit® E PO, ▲ Placebo.

Fonte: Autora.

De acordo com os perfis de dissolução obtidos por análise espectrofotométrica das formulações com grânulos revestidos com Eudragit® E PO e Eudragit® RS, a dissolução da cefalexina em água e mucosa artificial foi rápida, tendo liberação completa, em 15 minutos de ensaio. Os resultados representados na Figura 27A mostraram o valor máximo de liberação para Eudragit® RS em água de 104,92% e em mucosa artificial de 106,20% no tempo de 15 minutos. Para Eudragit® E PO em água houve liberação de 104,94% e em mucosa artificial de 106,10% também no tempo de 15 minutos. Sugere-se que esse comportamento do IFA, se dá pelo fato de ser altamente solúvel em água (USP, 2020; ANVISA, 2019).

Reis *et al.* (2007), descreveram 59,5% de liberação de um comprimido revestido de cefalexina, com dosagem de 500 mg no tempo de 15 minutos com dissolução em água e leitura em 262 nm, ou seja, é o equivalente à 297,5 mg de cefalexina liberada nesse período. Quando comparado à ± 75 mg de cefalexina das formulações preparadas neste estudo, 15 minutos seria o tempo suficiente para a dissolução de aproximadamente quatro vezes a quantidade de princípio ativo contido nos comprimidos formulados com os grânulos revestidos com Eudragit® RS e Eudragit® E PO.

Outro fator que potencialmente contribuiu para a rápida dissolução dos comprimidos, é que a cefalexina apresenta absorção de 80% a 100% (SARAVANAN, 2003) logo após a administração oral, justificando o comportamento similar do princípio ativo em ambos os ensaios, tanto em água quanto em mucosa artificial.

Lopalco *et al.* (2020) revestiram cloridrato de propranolol com Eudragit® E PO, com objetivo de mascarar o sabor do fármaco, formulando nas proporções de 1:10, 1:15 e 1:25 de princípio ativo e polímero, observando a porcentagem de eficiência de encapsulamento do propranolol com o Eudragit® E PO no teste de liberação *in vitro*. Os autores descreveram que a eficiência de encapsulamento melhora quando a proporção do fármaco com o polímero diminui de 1:10 para 1:25, ficando entre uma faixa de 81% e 100%. Neste caso, é possível que menor quantidade de IFA ficou exposto na superfície do revestimento e isso reduziu a passagem do fármaco para o meio de dissolução.

Os perfis de liberação de Lopalco *et al.* (2020), demonstraram liberação de 60% do fármaco em 15 minutos de ensaio em saliva artificial, descrevendo que este comportamento de liberação rápida, pode ter ocorrido devido ao uso de solvente orgânico na preparação da solução de revestimento, que conferiu à formulação uma superfície com mais porosidade, conseqüentemente mais permeável.

Os grânulos de cefalexina revestidos com Eudragit® E PO e Eudragit® RS, utilizados na formulação dos comprimidos, não obtiveram revestimento total do princípio ativo, conforme descrito no teste de quantificação dos grânulos de cefalexina revestidos com Eudragit® por CLAE, no item 5.2. Onde os resultados obtidos foram de 80,42% com revestimento de Eudragit® E PO e 76,06% com revestimento utilizando Eudragit® RS. Assim sendo, ainda há presença de fármaco livre, o que contribui para a quantificação de 100% de cefalexina em 15 minutos no ensaio de dissolução. Além disso, os granulados foram preparados com uma solução dos polímeros com etanol, ou seja, a adição de solvente orgânico pode ter ocasionado a porosidade ao grânulo conforme citada por Lopalco *et al.* (2020).

Assim, foi necessário avaliar o comportamento de liberação do fármaco a cada 2 minutos até completar 15 minutos de experimento, em que houve liberação total da cefalexina para ambos os meios de dissolução, água e mucosa artificial. Além disso, evidenciou a diferença no percentual de liberação na coleta inicial entre ambas as formulações nos meios descritos, conforme Tabela 25.

Tabela 23: Perfil de liberação dos revestimentos em água e mucosa artificial até 15 minutos de experimento.

Tempo (Horas)	Eudragit® RS(%) Água	DPR (%)	Eudragit® RS(%) Mucosa artificial	DPR (%)	Eudragit® E PO(%) Água	DPR (%)	Eudragit® E PO(%) Mucosa artificial	DPR (%)
2	66,98	0,06	65,18	0,12	23,56	0,21	21,81	0,15
4	70,82	0,10	67,66	0,45	35,40	0,38	28,70	0,42
6	78,45	0,36	77,31	0,56	43,28	0,41	42,05	0,60
8	89,86	0,52	82,47	0,73	64,69	0,68	64,60	0,66
10	96,58	0,86	90,40	0,82	74,28	0,97	73,84	1,03
12	100,70	0,21	100,38	0,19	85,77	0,41	85,97	0,32
14	102,25	0,87	102,33	1,09	100,31	1,03	98,45	0,96
15	104,92	1,54	106,2	1,97	104,94	0,62	106,1	0,88

Nota: Valores obtidos pela média das amostras analisadas em triplicata para cada formulação.

Fonte: Autora

Baseado nos resultados da Tabela 22 e 23 pode-se observar que não houve diferença significativa de liberação com a mudança nos meios de dissolução, água e mucosa artificial, quando comparamos com o mesmo polímero nos diferentes meios.

A dissolução completa em água e mucosa artificial para a formulação contendo grânulos revestidos com Eudragit® RS, era esperada, uma vez que o polímero possui capacidade de intumescimento e permeabilidade com propriedades independentes de pH. Mesmo tendo característica de insolubilidade em água, o polímero possui grupos de amônio quaternário, presentes como sais, tornando o polímero Eudragit® RS permeável em meio aquoso (PEARNOCHOB et al., 2003; EVONIK, 2020; KASHIF et al., 2016).

Karrout *et al.* (2018), encontraram comportamento semelhante para o ensaio de liberação de metoprolol revestido com Eudragit® RS. O perfil foi realizado em tampão fosfato pH 7,4 e em HCl 0,1 N, onde ficou evidenciado que a liberação de metoprolol foi mais rápida em tampão fosfato pH 7,4 do que em HCl 0,1 N, tendo liberação de 100% de fármaco, (tomando por base o metoprolol revestido com Eudragit® RS a 15%) em menos de 4 horas para tampão, sendo que a mesma porcentagem de liberação não foi atingida em 8 horas de ensaio usando HCl 0,1 N como meio de dissolução.

De encontro aos resultados de Karrout *et al.* (2018), fica evidente a maior concentração de princípio ativo liberada por Eudragit® RS em água e mucosa em relação ao Eudragit® E PO, principalmente nos primeiros 8 minutos de ensaio, tanto

para água quanto para mucosa, onde os resultados diferem em aproximadamente 30% de liberação da cefalexina.

A liberação da cefalexina presente nos grânulos revestidos com Eudragit® E PO evidencia a permeabilidade do polímero em meio aquoso, mesmo que sua solubilidade ocorra em $\text{pH} \leq 5$ (EVONIK, 2020). Pode ser observada liberação lenta e gradual com o polímero Eudragit® E PO até os 15 minutos de experimento, fato que não ocorreu com o Eudragit® RS. Considerando que em menos de 15 minutos pode já ter ocorrido a deglutição do comprimido pelo animal, a formulação com Eudragit® E PO mostrou ser adequada para testes futuros, já que o fármaco foi liberado lentamente podendo ter controlado a sensação desagradável do fármaco.

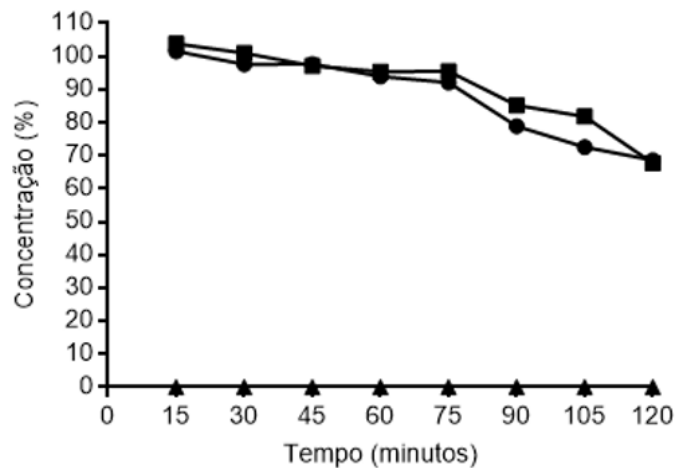
Aldrich *et al.* (2015) avaliaram as características diferentes de cães e gatos no momento da alimentação ou escolha do alimento. Descrevendo que para os cães, o ato de alimentar é rápido, uma vez que o cão não dedica muito tempo para mastigar e saborear o alimento durante a sessão de comer. Sabe-se que os cães devoram os alimentos oferecidos a eles de maneira gulosa, com a finalidade de não partilhar com animais concorrentes, mesmo que não exista outro animal por perto, somente por extinto. Com isso, pode-se sugerir que o tempo de permanência do comprimido na boca do animal é pequeno, sendo considerado adequado 15 minutos para a liberação total da cefalexina, uma vez que o animal irá deglutir o medicamento rapidamente e conseqüentemente a percepção de sabor amargo do princípio ativo não será sentido.

Aldrich *et al.* (2015) ainda descreveram o comportamento alimentar dos felinos, que vezes cheiram exaustivamente o alimento para verificar seu frescor e segurança, concluindo que o gato não é um comedor oportunista, ambicioso como o cachorro, e é seletivo sobre o que eles finalmente irão ingerir. O uso de palatilizante sabor carne e o Emdex®, excipiente coprocessado composto de amido hidrolisado, dextrose (90-92%) e maltose (3-5%), considerado diluente com propriedade edulcorante, na formulação do comprimido de cefalexina (Tabela,5) permite que o medicamento seja atrativo, e com isso possibilite a aceitação voluntária pelo animal (ARAÚJO *et al.*, 2004; THOMBRE, 2004).

No ensaio de perfil de liberação utilizando HCl 0,1M como meio de dissolução, o comportamento para as formulações foi semelhante ao observado nos perfis realizados em água e mucosa artificial, onde ocorreu a liberação total da cefalexina em 15 minutos de ensaio, conforme mostrado na Figura 27. Não foi possível a realização do ensaio em estágio tampão para a simulação no fluido intestinal, uma

vez que houve completa desagregação e desintegração dos comprimidos e dissolução do fármaco durante as duas horas de ensaio em meio de HCl 0,1M.

Figura 27: Perfil de dissolução em HCl 0,1M do comprimido de cefalexina palatável formulado com grânulos revestidos com Eudragit® RS e Eudragit® E PO em 2h de ensaio.



Nota: Curva obtida pela média das amostras analisadas em triplicata para cada formulação.

● Eudragit® RS, ■ Eudragit® E PO, ▲ Placebo.

Fonte: Autora.

A liberação mais rápida da formulação com Eudragit® E PO em HCl 0,1M, reforça sua característica da permeabilidade do polímero em meio aquoso, com melhor solubilidade em $\text{pH} \leq 5$ (EVONIK, 2020).

Lopalco *et al.* (2020) submeteram o cloridrato de propranolol revestido com Eudragit® E PO, ao ensaio de perfil de dissolução em pH 1,2, obtendo os resultados de liberação rápida, semelhante aos descritos da Tabela 24. A liberação do cloridrato de propranolol foi de 53,15% após 1 minuto, 87,92% após 5 minutos e 98,88% após 20 minutos de ensaio.

O comportamento semelhante de liberação em diferentes meios de dissolução e formulações pode ter como fator contribuinte a obtenção de comprimidos com pouca variação nos valores de dureza e dentro dos limites para que o comprimido desagregue e libere o princípio ativo, considerando que valores elevados de dureza impedem a desagregação dos mesmos. Saranavan (2002) descrevem a relação entre a dureza dos comprimidos e a velocidade de liberação da substância ativa em ensaios de dissolução, onde o aumento na dureza resultou em liberação mais lenta. Tendo em

vista que comprimidos de maior dureza contêm massa compacta e relativamente menos porosa.

6 CONCLUSÃO

Considerando os resultados apresentados no trabalho, foi possível desenvolver comprimidos a partir de grânulos de cefalexina revestida com Eudragit® RS e Eudragit® E PO e adição de palatilizante com características desejáveis.

Os testes de controle em processo e teor dos comprimidos, expressam a qualidade do processo produtivo dos lotes de ambos os grânulos utilizados. Os ensaios de perfil de dissolução foram realizados a fim de determinar o tempo de permanência dos comprimidos na cavidade bucal do animal, tendo o sabor amargo da cefalexina, o mínimo de exposição possível ao paladar do animal. Comprimidos produzidos com grânulos de cefalexina revestida com EDRAGIT® RS mostraram resultados com liberação rápida do princípio ativo em água, mucosa artificial e HCL 0,1 N. Entretanto, comprimidos produzidos com grânulos de cefalexina revestida com EDRAGIT® E PO, observou-se a liberação lenta e gradual. A formulação com Eudragit® E PO mostrou ser adequada para testes futuros, já que o fármaco foi liberado lentamente. Os resultados obtidos, viabilizam novos estudos com a finalidade de aumentar a eficácia de revestimento do IFA e o tempo de liberação do fármaco, assim, melhorando as propriedades sensoriais da cefalexina.

REFERÊNCIAS

ALDRICH, G., & KOPPEL, K. Pet Food Palatability Evaluation: A Review of Standard Assay Techniques and Interpretation of Results with a Primary Focus on Limitations. **Animals** V.5, n.1, p. 43–55, 2015.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **RDC Nº 166, DE 24 DE JULHO DE 2017**. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2721567/RDC_166_2017_COMP.pdf/d5fb92b3-6c6b-4130-8670-4e3263763401>. Acesso em 13 mai. 2020.

AKHGARI, A.; TAVAKOL, A. Prediction of optimum combination of Eudragit RS/Eudragit RL/EthylCellulose polymeric free films based on experimental design for using as a coating system for sustained release theophylline pellet. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**. v.6, n.2, p. 219- 225, 2016.

ARAUJO, J. A., STUDZINSKI, C. M., LARSON, B. T., & MILGRAM, N. W. Comparison of the cognitive palatability assessment protocol and the two-pan test for use in assessing palatability of two similar foods in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, V. 65, n.11, p. 1490–1496, 2004.

AULTON, M. E. Delineamento de formas farmacêuticas. 2ed. **Porto Alegre: Artmed**, 2006.

ATKINS, P. W.; JONES, Loretta. Princípios de química - questionando a vida moderna e o meio ambiente. 3. ed. **Porto Alegre: Bookman**, 2006.

AZAD, M. A.; *et al.* On-Demand Manufacturing of Direct Compressible Tablets: Can Formulation Be Simplified? **Pharmaceutical Research**, v.36 n.12, 2019.

BARACAT, M. M.; *et al.* Microcapsule Processing in a Spouted Bed. **Canadian Journal of Chemical Engineering**. v. 82, p. 134-141, 2004.

BERNAL, C. *et al.* Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análise calorimétricas diferenciais – DSC. **Química Nova**. V. 25, p. 849-855, 2002.

CARVALHO, V. M. *et al.* Infecções do trato urinário (ITU) de cães e gatos: etiologia e resistência ao antimicrobianos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 34, n.1, p. 62-70, 2014.

CHEN, H. *et al.* Direct Compression Tablet Containing 99% Active Ingredient A Tale of Spherical Crystallization. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v.108, p 1396-1400, 2019.

COUTO, R. O. D. **Desenvolvimento de filmes mucoadesivos para liberação de fármacos anestésicos na cavidade bucal**. 2015. 92f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2015.

CLIMENI, B. S. O.; *et al.* Cefalosporinas: sua origem, uso e função em animais de grande e pequeno porte. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**. Ano VII, n.12. 2009.

CRON, M., *et al.* Palatability evaluation study of a new oral formulation of marbofloxacin in cats. **Veterinary Record**, v.175, n.4, p. 88–88, 2014.

CROWLEY, M.M., *et al.* Physicochemical properties and mechanism of drug release from ethyl cellulose matrix tablets prepared by direct compression and hot-melt extrusion. **International Journal of Pharmaceutics**. v.269, p.509–522, 2004.

DARJI, M. A.; *et al.* Excipient Stability in Oral Solid Dosage Forms: A Review. **AAPS PharmSciTech**, v.19, n.1, p.12–26, 2017.

DESHMUKH, R.; MUJUMDAR, A.; NAIK, J. Production of aceclofenac-loaded sustained release micro/nanoparticles using pressure homogenization and spray drying. **Drying Technology**, v. 36, n. 4, p. 459-467, 2018.

EL-SHATTAWY, H. H.; KILDSIG, D. O.; PECK, G. E. Differential Scanning Calorimetry of Cephalexin-Dextrose and Cephalexin-Aspartame Mixtures. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 8, n. 6, p. 923-935, 1982.

ETTRE, L. S. Chromatography: the separation technique of the 20th century. **Chromatographia, Wiesbaden**, v. 51, n. 1/2, 2000.

EVONIK: Eudragit Application Guidelines 11th edition. Acesso em: 30 janeiro 2020. Disponível em: <http://www.pharma-polymers.com/pharmapolymers/en/downloads>.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. V. 1, 6^o edição, 2019. Acesso em: 11 Dezembro 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira/arquivos/7985json-file-1>.

FUENMAYOR, E.; *et al.* Comparison of fused-filament fabrication to direct compression and injection molding in the manufacture of oral tablets. **International Journal of Pharmaceutics**. V.558, p. 328-340, 2019.

FUNGWITHAYA, P; *et al.* Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in dogs treated with cephalexin monohydrate. **The Canadian Veterinary Journal**. v. 58, n.1, p. 73-77, 2017.

GANESHVAR, P. S.; *et al.* Cefalexin: Molecular Structure, Vibrational Spectroscopy, Natural Bond Orbital Analysis and HOMO, LUMO Studies. **IJSR - International Journal of Scientific Research**, v. 4, n. 10, p. 182-189, 2015.

GRYCZKE, A.; *et al.* Development and evaluation of orally disintegrating tablets (ODTs) containing Ibuprofen granules prepared by hot melt extrusion. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.86, p. 275-284, 2011.

HOFMANOVÁ, J. K.; *et al.* Sensory attributes of coated tablets: Developing a formal lexicon and sensory wheel. **International Journal of Pharmaceutics**. v.590, 2020.

JÄRVINEN, M. A.; *et al.* Continuous direct tablet compression: effects of impeller rotation rate, total feed rate and drug content on the tablet properties and drug release. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v.39, n.11, p.1802–1808, 2012.

KAI B, L.; *et al.* Three-ways crossover bioequivalence study of cephalexin in healthy Malay volunteers, **Journal Drug Development and Industrial Pharmacy**. v. 40, n.9. p. 1156-1162, 2014.

KARROUT, Y.; *et al.* When drugs plasticize film coatings: Unusual formulation effects observed with metoprolol and Eudragit RS. **International Journal of Pharmaceutics**. v.539, p. 39- 49, 2018.

KASHIF, P. M.; *et al.* Development of Eudragit RS 100 Microparticles Loaded with Ropinirole: Optimization and In Vitro Evaluation Studies. **AAPS PharmSciTech**, v. 18, n.5, p.1810–1822, 2016.

KREIL, V.; *et al.* Pharmacokinetics of Immediate and Sustained Release Cephalexin Administered by Different Routes to Llamas (*Lama glama*). **Hindawi Publishing Corporation Advances in Pharmacological Sciences**. v.2016, Article ID 4621039, 2016.

LAMPRECHT, A.; *et al.* Biodegradable microparticles as a two-drug controlled release formulation: a potential treatment of inflammatory bowel disease. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 69, p. 445 – 454, 2000.

LIEW, K. B.; *et al.* Three-ways crossover bioequivalence study of cephalexin in healthy Malay volunteers. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, V.40 n.9, p. 1156–1162, 2013.

LIN, S.Y.; *et al.* DSC-FTIR microspectroscopy used to investigate the heat-induced intramolecular cyclic anhydride formation between Eudragit E and PVA copolymer. **Polymer Journal**, v. 43, p. 577–580, 2011.

LIN, S.Y.; YU, H.-L. Microscopic Fourier Transform Infrared/Differential Scanning Calorimetry System Used to Study the Different Thermal Behaviors of Polymethacrylate Copolymers of Eudragits RS, RL, E 30D, or E. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 78, p. 829–835, 2000.

LIU, J., *et al.* Properties of lipophilic matrix tablets containing phenylpropanolamine hydrochloride prepared by hot-melt extrusion. **European Journal Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v.52, p.181–190, 2001.

LOPALCO, A.; *et al.* Taste masking of propranolol hydrochloride by microbeads of EUDRAGIT® E PO obtained with prilling technique for paediatric oral administration. **International Journal of Pharmaceutics**, V.574, 2020.

LORETI, G., *et al.* Evaluation of hot-melt extrusion technique in the preparation of HPC matrices for prolonged release. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v.52, p.77–85, 2014.

MARTINELLO, T.; *et al.* Optimization of poorly compactable drug tablets manufactured by direct compression using the mixture experimental design. **International Journal of Pharmaceutics**, v.322, n.1-2, p.87–95, 2006.

MEDEIROS, D.C.; *et al.* Preclinical Evaluation of Rutin-Loaded Microparticles with an Enhanced Analgesic Effect. **ACS Omega**. v.4, n.1, p. 1221–1227, 2019.

MEIER, R.; *et al.* Simplified formulations with high drug loads for continuous twin-screw granulation. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 496 n.1, p. 12–23, 2015.

MOUSTAFINE, R.I.; *et al.* Eudragit® E PO as a complementary material for designing oral drug delivery systems with controlled release properties: comparative evaluation of new interpolyelectrolyte complexes with countercharged Eudragit L100 Copolymers. **Molecular Pharmaceutics**, v.10, n.7, p. 2630- 2641, 2013.

NAGASHIMA, A. I., *et al.* Development of effervescent products, in powder and tablet form, supplemented with probiotics *Lactobacillus acidophilus* and *Saccharomyces boulardii*. **Food Science and Technology**, v.33, n.4, p.605–611, 2013.

PANAKANTI, R., & NARANG, A. S. Impact of Excipient Interactions on Drug Bioavailability from Solid Dosage Forms. **Pharmaceutical Research**, v.29, n.10, p.2639–2659, 2012.

PAULA. C. E. R.; *et al.* Determinação espectrofotométrica de cefalexina em formulações farmacêuticas explorando a sua reação de transferência de carga com a quinalizarina. **Quim. Nova**, v. 33, n. 4, p. 914-919, 2010.

PAVIA, D. L.; *et al.* **Introdução à espectroscopia**. 4 ed. Bellingham: Cengage Learning, 2010.

PEARNOCHOB, N., & BODMEIER, R. Dry Powder Coating of Pellets with Micronized Eudragit®RS for Extended Drug Release. **Pharmaceutical Research**, V. 20, n.12, p. 1970–1976, 2003.

REMYNGTON, G. A Ciência e a Prática da Farmácia, 20. ed., Rio de Janeiro: Guanabara, p. 2204, 2208, 2004.

RIBANI, M.; *et al.* Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, n. 27, v.5, p.771–780, 2004.

ROJAS, J.; *et al.* Functionality of chitin as a direct compression excipient: An acetaminophen comparative study. **Carbohydrate Polymers**. v.103, p. 134-139, 2014.

SAHADEVAN, J. T., *et al.* Formulation and Evaluation of Cephalexin Extended-release Matrix Tablets Using Hydroxy Propyl Methyl Cellulose as Rate-controlling Polymer. **Journal of Young Pharmacists**, v.4, n.1, p.3–12, 2012

SANTOS, J.; *et al.* Evaluation of the disolution profile of drugs by multivariate electronic spectroscopy. **Quím. Nova**, v. 39, n.9, 2011.

SARAVANAN, M.; *et al.* Hydroxypropyl Methylcellulose Based Cephalexin Extended Release Tablets: Influence of Tablet Formulation, Hardness and Storage on in Vitro Release Kinetics. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v.51, n.8, p.978- 983, 2003.

SAUER, *et al.* Dry powder coating of pharmaceuticals: A review. **International Journal of Pharmaceutics**, v.457, n.2, p.488–502, 2013.

SINGH, I.; RANA, V. Exploiting the interaction of polymethacrylates with iron oxide for the enhancement of mucoadhesive strength. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 27, n. 2, p. 343-350, 2014.

SCHMIDT, A., *et al.* Continuous Single-Step Wet Granulation with Integrated in Barrel Drying. **Pharmaceutical Research**, V. 35, n.8, 2018.

SPINOSA, H. S.; *et al.* **Farmacologia Aplicada em Medicina Veterinária**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. Vol. 2, cap. 37, p. 465- 471, 2006.

SPINOSA, H. S.; *et al.* **Farmacologia Aplicada em Medicina Veterinária**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. Vol. 2, cap. 37, p. 442- 449, 2015

SOLOMONS, G. T. W. **Química Orgânica – Volume 1**. 12. Ed. LTC. 2018. Vol 1. 656 p, 2018.

SONG, Y.; *et al.* Key Considerations in Designing Oral Drug Delivery Systems for Dogs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, V. 105 n.5, p. 1576–1585, 2016.

SUN, Y., HSU, S., & LAI, Transport Properties of Ionic Drugs in the Ammonio Methacrylate Copolymer Membranes. **Journal Pharmaceutical Research**, V.18, n.3, p. 304–310, 2001.

THAKRAL, S.; *et al.* Eudragit®: a technology evaluation. **Expert Opinion on Drug Delivery**, V.10 n.1, p.131–149, 2012.

THOMBRE, A. G. Oral delivery of medications to companion animals: palatability considerations. **Advanced Drug Delivery Reviews**, V.56, p.1399–1413, 2004.

TOBIE, C., PÉRON, F., & LAROSE, C. Assessing Food Preferences in Dogs and Cats: A Review of the Current Methods. **Animals**, V.5, n.1, p. 126–137, 2005.

UNITED STATES PHARMACOPEIA- USP. USP42- NF37 2S edição, 2019. Acesso em: 25 agosto 2019. Disponível em: https://online.uspnf.com/uspnf/document/1_GUID-8065F4ED-9479-4CE5-8B1B-3C01D7EC5A32_1_en-US?source=.

VAN DEN BAN, S., & GOODWIN, D. J. The Impact of Granule Density on Tableting and Pharmaceutical Product Performance. **Pharmaceutical Research**, V.34, n.5, p. 1002–1011, 2017.

VESSECCHI, R.; *et al.* Aplicação da química quântica computacional no estudo de processos químicos envolvidos em espectrometria de massas. **Química Nova**, n.31, v. 4, p. 840–853, 2008.

VILLANOVA, J.O. - Tecnologia Farmacêutica - **Preparação de Formas Sólidas**, Belo Horizonte, 2008. Disponível em: <<http://www.slideshare.net/janavilla/formas-farmacuticas-slidasjanaina-villanova>>. Acesso em: 03 de maio de 2020.

VIJAY, J.; *et al.* Formulation and Evaluation of Cephalexin Extended-release Matrix Tablets Using Hydroxy Propyl Methyl Cellulose as Rate-controlling Polymer. **Journal of Young Pharmacists**, v. 4, n. 1, p. 3-12, 2012.

WANG, G.; *et al.* Characterizations of a new flame-retardant polymer. **Science Direct**, v. 91, p. 3344- 3353, 2006.

WANG, L.; *et al.* Determination of cephalexin residual level using ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Residue depletion study in swine. **Journal of Chromatography**, v.1124, p.233–238, 2019.

ZHOU D. Understanding physicochemical properties for pharmaceutical product development and manufacturing II: physical and chemical stability and excipient compatibility. **J ValidTechnol**, v.15, n. 3, p.36, 2009.