UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Produção e Controle Farmacêuticos

OTIMIZAÇÃO DE SUSPENSÕES DE
BENZOILMETRONIDAZOL

Telma Mary Sakuda

Tese para obtenção do grau de
DOCTOR

Orientador:
Prof. Dr. Reynaldo Nacco

São Paulo
1993

TELMA MARY SAKUDA

OTIMIZAÇÃO DE SUSPENSÕES DE BENZOILMETRONIDAZOL

COMISSÃO JULGADORA

TESE PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR

Presidente e Orientador

Primeiro Examinador

Segundo Examinador

Terceiro Examinador

Quarto Examinador

Quinto Examinador

São Paulo, de de 1993

Aos meus pais

Toshiaki e Tereza,
que com compreensão e amor
sempre me ensinaram a escolher
meus próprios caminhos.

Ao meu marido

Taro,
pelo amor, amizade e apoio.

A minhas filhas,

Tarsila Hanna e Taisa Tisse,
que aceitaram com resignação minha
ausência, permitindo-me concluir
mais uma etapa da vida universitária.

Ao Prof. Dr. REYNALDO NACCO,
pela sábia orientação, constante apoio e incentivo

AGRADECIMENTOS

A Coordenação do curso de pós-graduação em Fármaco e Medicamentos do Departamento de Farmácia da Universidade de São Paulo, pela atenção a nós dedicada durante todo o decorrer do curso

A Profa. Dra. Maria Elena Taqueda, do Departamento de Engenharia Química da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, pela amizade, incentivo e orientação na parte experimental do trabalho.

Ao Prof. Dr. João Haikal Helou pelo apoio constante, valiosas sugestões e revisão deste trabalho.

A pós-graduanda Nádia Aracy Bou Chacra pelo auxílio na execução dos testes microbiológicos.

A Profa. Dra Mitsuko Taba Ohara e a Profa. Dra. Terezinha de Jesus Andreoli Pinto, pelas sugestões, apoio e amizade.

A bibliotecária Sra. Moema R. dos Santos, pela orientação e revisão das referências bibliográficas.

Ao Sr. José de Souza Sobrinho e Sra. Márcia Vallin, pelos serviços diversos.

A todos que colaboraram na execução deste trabalho

SUMÁRIO

Capítulo 1	
Introdução	2
Capítulo 2	
Objetivos	5
Capítulo 3	
Revisão da literatura	7
3.1 Suspensão: Generalidades	7
3.2 Formulação de Suspensões	10
3.2.1 Fármaco (substância dispersa)	10
3.2.2 Agentes molhantes (tensoativos)	12
3.2.3 Agentes suspensores	14
3.2.4 Polióis (espessantes)	21
3.2.5 Conservantes	21
3.3 Otimização	26
Capítulo 4	
Materiais e Métodos	29
4.1 Material	30
4.1.1 Matérias-primas	30
4.1.2 Equipamentos	31
4.2 Métodos	32
4.2.1 Técnicas de preparo das suspensões de benzoilmetronidazol	32
4.2.2 Determinação de parâmetros analíticos do benzoilmetronidazol e das suspensões de benzoilmetronidazol	33
4.2.2.1 Volume e densidade aparentes do benzoilmetronidazol	33
4.2.2.2 pH	33
4.2.2.3 Viscosidade	34
4.2.2.4 Volume do fármaco disperso	34
4.2.2.5 Classificação das suspensões	34
4.2.2.6 Doseamento do benzoilmetronidazol	34
4.2.2.7 Avaliação da eficácia antimicrobiana do ácido sórbico na suspensão de benzoilmetronidazol	36
4.2.3 Planejamento estatístico de ensaios experimentais	37
4.2.3.1 Planejamento com quatro fontes de variação	37
4.2.3.2 Escolha das melhores fórmulas da suspensão de benzoilmetronidazol	42
4.2.3.3 Otimização da fórmula selecionada	43

Capítulo 5

Resultados e discussão	49
5.1 Valores de pH, Viscosidade e Volume de Sedimentação das suspensões de benzoilmetronidazol do arranjo quadrado greco-latino	50
5.1.1 Análise de variância para os dados experimentais obtidos com o arranjo greco-latino	54
5.2 Seleção das melhores fórmulas a partir da comparação de médias	60
5.3 Otimização da fórmula da suspensão de benzoilmetronidazol	74
5.3.1 Projeto fatorial de primeira ordem	80
5.3.2 Análise do projeto de primeira ordem, para o volume de sedimentação	81
5.3.3 Projeto fatorial de segunda ordem	81
5.3.4. Análise dos resultados com base nos modelos ajustados	84
5.3.5 Análise dos modelos ajustados pela técnica da superfície de resposta ..	87
5.3.6 Determinação das melhores condições do processo, com base na análise canônica	94

Capítulo 6

Conclusões	100
Referências Bibliográficas	102
Resumo	117
Abstract	119

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

Dentre os medicamentos que foram considerados para estudo, destacou-se a suspensão de benzoilmetronidazol. Inicialmente pelo fato deste fármaco ser usado contra as amebíases intestinais, parasitose com incidência endêmica no Brasil. Outro fato importante, é que no mercado farmacêutico internacional, as suspensões de benzoilmetronidazol apresentam dosagem de 64,0 mg por mL, que corresponde a 40,0 mg de forma ativa por mL (44). Entretanto, naquelas de procedência nacional verifica-se que a concentração do pró-fármaco rotulado é semelhante à da forma ativa, não sendo considerado o grupo benzoila, 64mg/mL de substância dispersa em suspensão poderia representar dificuldade na obtenção de uma formulação estável.

A forma farmacêutica suspensão é um sistema heterogêneo constituído de duas fases: uma externa, dispersante ou contínua, que consiste de líquidos; e outra interna, dispersa ou descontínua, formada de partículas sólidas com características de mínima ou nula solubilidade na fase líquida.

Sendo um sistema complexo, vários fatores físico-químicos influem na sua estabilidade. A escolha dos componentes da formula é, para o formulador, a tarefa mais importante, pois visa eliminar incompatibilidades entre os mesmos, garantindo assim estabilidade durante a vida útil do produto.

A fórmula básica de uma suspensão medicamentosa oral consiste no fármco, no agente molhante, no agente suspensor, no edulcorante e no conservante (29, 118).

Os agente molhantes facilitam a dispersão de partículas insolúveis na fase líquida, para esta finalidade são utilizadas substâncias com propriedades tensoativas (62, 157).

Os agentes suspensores são utilizados para aumentar a viscosidade da fase contínua possibilitando manter a fase descontínua dispersa (133)

Em geral, as suspensões requerem edulcorantes para mascarar o sabor desagradável dos fármacos. A sacarose é bastante utilizada na forma de xarope simples que contém 85% (p/v) desta substância (40), porém não pode ser usada por diabéticos. Como alternativa pode-se utilizar a sacarina sódica e o ciclamato de sódio com o intuito de conseguir o dulçor desejado (140).

Os conservantes são adicionados com a finalidade de garantir o não crescimento de microrganismos durante o período de utilização do medicamento. Vários autores verificaram diminuição da atividade antimicrobiana dos conservantes e, procuraram mostrar que ocorre a interação dessas substâncias com as macromoléculas, tanto do tensoativo quanto do agente suspensor. (19, 85, 86, 91, 144)

Compor uma fórmula medicamentosa requer estudo criterioso dos seus componentes. Aqueles que ainda hoje acreditam que formular é uma arte, escolhem os adjuvantes por meio de conhecimentos adquiridos da literatura, por suas experiências pessoais e criatividade. O farmacêutico diante dos adjuvantes escolhidos poderá associá-los, dando origem a diversas fórmulas.

Na maioria das vezes, o planejamento das experiências é conduzido estudando-se uma variável por vez, mantendo-se as outras constantes. Esta abordagem é insuficiente no estudo de sistemas complexos, como a forma farmacêutica suspensão.

Uma estratégia mais efetiva consiste no planejamento fatorial das experiências, no qual todos os fatores são estudados simultaneamente, e o resultado da pesquisa pode ser avaliado de maneira mais eficiente (2, 16, 18).

Entre os vários procedimentos de otimização disponíveis, a programação fatorial é bastante útil pois permite elucidar o efeito de diferentes fatores e de suas interações. O resultado final da seqüência de experimentos levará a um modelo empírico onde poderão ser preditas as respostas, quando se variam os fatores dentro dos limites estabelecidos. O modelo é representado em forma de equação, podendo ou não ser representado geometricamente. A aplicação de técnicas de otimização no planejamento de fórmulas amplia, portanto, as perspectivas de racionalização de processos de formulação.

CAPÍTULO 2

OBJETIVOS

Com o presente trabalho, procurou-se explorar os seguintes aspectos:

1. Estudar o desempenho dos diferentes adjuvantes utilizados como componentes das fórmulas de suspensões de benzoilmetronidazol;
2. Otimizar as fórmulas selecionadas na primeira etapa quanto à quantidade ideal dos componentes da formulação.

CAPÍTULO 3
REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Suspensões: Generalidades

A forma farmacêutica suspensão é frequentemente utilizada para administrar um fármaco insolúvel ou pouco solúvel em água (19, 35, 48, 109, 120). Além da baixa solubilidade, outras razões justificam veicular o(s) fármaco(s) nesta forma, a melhoria da eficácia terapêutica pelo prolongamento do efeito farmacológico, ou ainda facilita o mascaramento do sabor desagradável de alguns fármacos (118, 122).

Uma formulação adequada requer que a suspensão seja homogênea durante o período de validade do produto, devendo fluir facilmente do material de acondicionamento (103, 120, 139). Segundo SCHEER (133), a suspensão ideal deve ter as seguintes características: o fármaco disperso não deve sedimentar rapidamente, manter a estabilidade do sistema com pequena ou nula separação de camadas. Se ocorrer sedimentação, a ressuspensão deve ser obtida facilmente por leve agitação, sem ocorrer compactação. A viscosidade não deve ser muito elevada para não dificultar a saída da suspensão do recipiente. Além disso, a suspensão deve ser física e quimicamente estável e preservada biologicamente durante a vida útil do produto. REES (123) recomenda que as suspensões devem permitir ao consumidor o uso de doses uniformes e terapeuticamente ativas, com propriedades organolépticas agradáveis, proporcionando boa aceitação pelo paciente.

A técnica de formular suspensões é mais complexa que a usada para as preparações líquidas monofásicas. Sistemas dispersos estão sujeitos a numerosas influências, que alteram sua estabilidade, sejam de ordem termodinâmica, eletrocinética, interfacial, de sedimentação e reológica (96, 138).

Existe uma tendência nos sólidos subdivididos de adesão de suas partículas, o que provoca uma redução de sua energia livre (5). Essa tendência pode ser evitada usando-se adjuvantes adequados para que a suspensão não apresente aglomerados de difícil ressuspensão (124).

Outro fator que influencia a estabilidade física da suspensão é o crescimento de cristais, fato que ocorre quando a atividade termodinâmica da substância é maior na fase líquida do que na fase sólida (5, 121, 122). Segundo HIGUCHI (74), este fenômeno

provoca a formação de partículas de maiores dimensões, que vão sedimentar mais rapidamente e dificultar a redispersão.

Sob o ponto de vista eletrocinético, devem ser consideradas as forças de atração e de repulsão entre as partículas (75, 100, 133). As cargas são adquiridas pela ionização das moléculas da superfície, absorção de íons da fase líquida ou pela diferença entre as constantes dielétricas das partículas dispersas e do meio (110, 140).

A energia total de interação, representada pela soma do potencial de energia de repulsão eletrostática e pela força de atração de London-Van der Waals, resulta na probabilidade de formação do sedimento floculado ou compactado (49, 50, 70, 100, 133, 134). Assim, as partículas que tendem a se atrair através das forças de London-Van der Waals mantêm distância suficientes para permitir a formação de estruturas abertas ou floculadas (27, 28, 72, 98, 99, 108, 124, 160). Quando o potencial de energia de repulsão é maior, as partículas mantêm sua individualidade, durante o processo de sedimentação, formando uma suspensão desfloculada. Neste caso, ocorre sedimentação em função do tamanho das partículas. O sedimento ocupa pequeno volume, é sólido e de difícil redispersão, fenômeno denominado compactação (50, 51, 139, 140, 159, 160).

Em relação às propriedades interfaciais, o fenômeno denominado cremagem ou flutuação pode surgir na incorporação da fase sólida dentro da fase líquida (103). Isto se deve à pouca afinidade entre as fases, ou à baixa molhabilidade do sólido. Em decorrência deste problema, as partículas se aglomeram e flutuam na superfície do líquido sendo difícil sua redispersão no veículo (5, 22, 104, 122, 154).

A estabilidade das suspensões é também influenciada pela velocidade de sedimentação. Este processo é inevitável, devido a tendência das partículas suspensas no meio líquido se dirigirem para o fundo do recipiente em função da ação da força de gravidade (28, 120). A velocidade de sedimentação está diretamente relacionada com as características das fases dispersa e dispersante (28, 71), conforme a lei de Stokes (75). Quanto menor o tamanho das partículas e a diferença entre as densidades da fase dispersa e dispersante; e maior a viscosidade do veículo menor será a velocidade de sedimentação (75).

Entretanto, a lei de Stokes não expressa a verdadeira velocidade de sedimentação das suspensões, pois para a mesma ser válida, as partículas deveriam ser perfeitamente esféricas, rígidas, de tamanho uniforme e constituindo-se numa suspensão muito diluída, fazendo com que as partículas não interfiram umas com as outras,

sedimentando-se individualmente. Neste caso, o efeito elétrico entre as partículas sólidas e a fase dispersante é desprezível.

Outra abordagem foi feita por HIGUCHI (74), para as suspensões mais concentradas. O autor utilizou a lei de KOZENY obtendo uma fórmula para determinar a velocidade de fluxo laminar. Para isto, considerou o fenômeno de sedimentação como um movimento da fase dispersante através de um leito formado pela fase interna sólida (122). Esta relação está sujeita também a limitações tais como:

- a exigência de porosidade constante, causadas por partículas semelhantes entre si;
- a elevada diferença de pressão entre as extremidades consideradas;
- não apresentar fenômenos de superfície.

As equações de Stokes e de Higuchi diferem fundamentalmente em relação à interpretação física, mas apresentam vários termos em comum. A menor velocidade de sedimentação será alcançada quando: a diferença entre as densidades da fase contínua e descontínua aproximar-se de zero, o tamanho de partículas for inferior a 5 micrômetros e a viscosidade do sistema for elevada. Estes parâmetros devem ser considerados, apesar de não serem verdadeiros para as suspensões farmacêuticas.

Como visto anteriormente, a viscosidade de uma suspensão é um fator que interfere na velocidade de sedimentação. Esta não deve ser elevada, a ponto de dificultar a saída da suspensão do material de acondicionamento, ou baixa, evitando que as partículas se mantenham em suspensão. Além disto, a característica de fluxo da fase dispersa deve ser considerada (23, 24). Segundo ZATZ (159), os meios dispersantes deveriam ter características não newtonianas, pois estas apresentam qualificações que permitem estrutura resistente à sedimentação do fármaco. Entre os tipos adequados de comportamento de fluxo inclui-se o pseudoplásticos e o plástico, com qualificações tixotrópicas isto é, há necessidade de se aplicar uma determinada força para que o líquido flua e este no estado de repouso apresenta viscosidade elevada(103).

3.2 Formulação de Suspensões

Na formulação de suspensões deve-se compatibilizar as influências físico-químicas com as características adequadas à estabilidade do produto, visando a eficácia terapêutica durante o prazo de validade.

Para atender a tais requisitos, recorre-se ao emprego de adjuvantes farmacotécnicos com a finalidade de minimizar os efeitos causados por esses fatores. Aliado a isto, deve-se considerar as variações inerentes ao fármaco insolúvel. Portanto, a formulação de uma suspensão estável e com produção de lotes reproduzíveis requer estudo criterioso.

3.2.1. Fármaco (substância dispersa)

Quanto ao conhecimento do fármaco, SCHEER (133) recomenda especial atenção ao observar características, tais como: fórmula estrutural; pureza; reatividade e produtos de decomposição; pH; pka.; densidade; ponto de fusão; solubilidade e estabilidade. O formulador deverá conhecer ainda a farmacologia e a toxicidade do fármaco.

O tamanho das partículas é um fator importante a ser considerado (110). Segundo as equações de Stokes e de Kozeny e Higuchi a velocidade de sedimentação apresenta relação direta com o raio da partícula ao quadrado

A redução do tamanho do fármaco contribui diminuindo a velocidade de sedimentação, assegura homogeneidade na administração e melhora a biodisponibilidade do fármaco (122). Quando as partículas menores são administradas pela via parenteral produzem menos dor, o mesmo ocorrendo pela via oftálmica, onde as sensações desagradáveis são atenuadas (5).

Na diminuição do tamanho das partículas deve-se considerar não só o tamanho médio, mas também sua distribuição. Quanto ao tamanho ideal das partículas, a literatura é bastante conflitante, uma vez que os valores das dimensões médias variam entre 0,1 a 50 micrômetros (5, 124, 159). Porém, NASH (110) considera este intervalo de dimensão adequado para preparar uma suspensão estável.

Há diversos procedimentos para se reduzir o tamanho dos sólidos utilizados em suspensões, tais como a micropulverização, a micronização e a precipitação controlada por ultra-som.

A micropulverização é um método rápido e barato para produzir pós finamente divididos. Utilizam-se moinhos com alta velocidade de atrito ou impacto que são muitas vezes acoplados com classificador para facilitar a separação de partículas. A principal desvantagem da micropulverização é a grande variação do tamanho das partículas produzidas, normalmente entre 10 a 50 micrômetro. Entretanto, este limite é satisfatório para produzir suspensões orais e tópicas.

A micronização baseia-se nos moinhos de energia fluida, submetendo-se o material sólido a uma corrente de fluidos elásticos em alta velocidade em determinado espaço. A fluidez do sólido é obtida com a utilização de um gás inerte ou do ar. As partículas são introduzidas na câmara do moinho através de um jato de gás, com velocidade sônica ou ultra sônica, que as impulsionam de tal forma a produzir uma violenta turbulência, provocando choque entre as partículas. Com a moagem se obtém micropartículas com estreita faixa de distribuição de dimensão, com tamanho menores que 10 micrômetros, bastante úteis na preparação de suspensões oftálmicas e parenterais.

A precipitação controlada por ultra-som produz partículas extremamente finas com dimensões menores que 5 micrômetros. O método baseia-se na formação de microcristais através de um choque de temperatura de uma solução saturada do fármaco. Este método produz micropartículas com distribuição uniforme e tem a vantagem de não desenvolver cargas eletrostáticas na superfície das partículas, como ocorre no processo de micronização. Exceto pelo custo, esta técnica poderia ser técnica de escolha para a redução do tamanho das partículas (110).

A análise da distribuição de tamanho das partículas deve ser efetuada antes da incorporação do sólido no veículo e no produto final (133). A técnica de fotomicroscopia permite, além da determinação do tamanho do sólido, observar e acompanhar a estabilidade das suspensões em dimensões microscópicas. É também útil na detecção de mudanças na distribuição do tamanho de partículas e na formação de cristais (5).

O "Coulter Counter" é um contador eletrônico de partículas. A determinação do tamanho baseia-se na resistência causada pela presença da partícula no eletrodo. A suspensão do sólido passa através de um pequeno orifício com eletrodos imersos em ambos os lados. A passagem de cada partícula contribui para uma mudança momentânea de resistência entre os eletrodos, produzindo um pulso elétrico que é proporcional ao seu

tamanho. Esse método é bastante útil na obtenção da distribuição do tamanho das partículas hidrofóbicas. Entretanto, as suspensões devem estar previamente diluídas com eletrólitos e tensoativos, a fim de assegurar uma monodispersão antes da análise. Por conseguinte, o "Coulter Counter" não deve ser utilizado para determinar o tamanho real das partículas (111).

3.2.2. Agentes molhantes

Ao se incorporar o fármaco como fase dispersa de numa suspensão pode ocorrer ou não afinidade entre as fases. Quando ocorre, o veículo molha totalmente o sólido permitindo sua dispersão. Entretanto, quando isso não ocorre, o líquido não consegue deslocar a camada de ar que envolve o sólido provocando a formação de aglomerados de partículas que flutuam na superfície. Este fenômeno é conhecido como flutuação ou cremagem (5, 73).

A molhabilidade de um sólido por um líquido é expressa em termos de ângulo de contato formado entre o sólido e o líquido. O ângulo resultante representa o equilíbrio entre as forças de atração entre as moléculas do líquido e do ar; do líquido e do sólido; e do sólido e do ar, portanto as tensões interfaciais (5, 121, 124).

Quando o líquido tem alta afinidade por um sólido, o ângulo de contato é zero sendo perfeitamente molhável. O outro extremo é o valor de 180° , ou seja, zero de adesão entre o sólido e o líquido, situação esta não observada na prática (3, 33, 159).

A determinação do ângulo de contato é de difícil execução podendo apresentar problemas em suas medidas. Em consequência, vários autores sugeriram métodos indiretos com a finalidade de melhor compreender o fenômeno da molhabilidade e assim, selecionar o tensoativo adequado (5, 22, 122, 129). Entretanto, esses métodos são empíricos, de duvidosa exatidão e precisão (159).

Os tensoativos são agentes molhantes principais que permitem alterar a relação energética de interfaces pela diminuição da tensão interfacial. Conseqüentemente, há uma diminuição do ângulo de contato entre o sólido e o líquido, possibilitando que haja o deslocamento do ar que envolve as partículas e facilitando sua molhabilidade (17).

A princípio, todos os agentes tensoativos poderiam ser utilizados como agentes molhantes, já que possuem a propriedade de interferir nas interfaces. Todavia, há em geral, a predominância de uma característica sobre a outra, tais como, ser emulsificante para

emulsões do tipo óleo em água ou para o do tipo água em óleo, ter ação molhante ou solubilizante.

Os agentes tensoativos para uso farmacêuticos são classificados de maneira geral em iônicos e não iônicos (46). Na categoria de agente tensoativo iônico utilizam-se principalmente como molhante o deoctil sulfossuccinato de sódio, o laurilsulfato de sódio, o cloridrato de benzalcônio e o cloridrato de cetilpiridínio (22, 110). Os não iônicos são representados pelos polissorbatos e ésteres de sorbitan (3, 46, 35). COLLET e AULTON (35) recomendam a utilização dos não iônicos nas preparações orais devido à baixa toxicidade.

NASH (110) afirma ser o dioctilssulfossuccinato de sódio e lauril sulfato de sódio efetivos para fármacos com zeta potencial negativo; o cloreto de benzalcônio e o cloreto de cetilpiridínio para os fármacos com zeta potencial negativo. Contudo, a simples determinação do potencial zeta da substância a ser dispersa e a adição do tensoativo não conduzem a formação de um sistema floculado. Para que esta condição ocorra é necessário a redução do potencial zeta do sistema (25, 82, 84, 112, 134).

O potencial zeta é um valor calculado através da mobilidade eletroforética das partículas em um campo elétrico. Esse representa a carga efetiva das partículas, isto é, a densidade de carga resultante da ionização das moléculas da superfície do fármaco e/ou adsorção de íons ou de moléculas do meio dispersante (21, 122). A redução do potencial zeta é alcançado com adição de íons de cargas opostas à densidade da carga resultante das partículas em suspensão (96).

Os tensoativos não iônicos tais como o polissorbato 80, o copolímero de polioxietileno-polioxipropileno (Pluronic F.68) ou o Triton (WR-1339) requerem também adição de eletrólito neutro para baixar a tensão interfacial com a finalidade de forçar a formação da dupla camada (110).

HIESTAND (73) recomenda o uso de tensoativos não iônicos por apresentarem baixa energia de adsorção em relação aos iônicos. BERTUZZI (13) sugere a utilização de associações desses tensoativos, sendo um com características água em óleo, isto é, de baixo número de EHL, como os Spans e outro de características óleo em água como os Polissorbatos. Para estes agentes apresentarem características molhantes adequadas para suspensões, os valores de equilíbrio hidrófilo-lipófilo (número de EHL) sugeridos devem estar entre 6 e 9 (122, 133).

MOES (106) estudou a influência do teor de Tween^R 80 na energia de ligação das partículas das suspensões de sulfamida e palmitato de cloranfenicol, observou a

tendência destas preparações de adquirirem estrutura tixotrópica e viscosidade aparente adequada, característico de um estado floculado. O fenômeno foi interpretado como sendo a influência entre o grau de cobertura das partículas sólidas pelo agente tensoativo e o processo de floculação induzido pelos polímeros hidrófilos utilizados como agentes suspensores. Portanto, o abaixamento da tensão interfacial pode ser alcançada também pela adição de colóides hidrófilos, como a carboximetilcelulose, a goma arábica e de substâncias não solúveis em água como a bentonita e o Aerosil^R (35, 121, 133).

Embora menos eficientes que os tensoativos, os polióis podem ser utilizados como agentes molhantes. Estes deslocam o ar que envolve as partículas sólidas permitindo ocorrer maior contato do líquido com as partículas sólidas (17). A glicerina, sorbitol, propilenoglicol, polietilenoglicol são os polióis de escolha na preparação de suspensões (35, 125). A associação de tensoativos e glicerina é clássica pois desta forma o agente molhante principal pode ser mantido em níveis mínimos (133).

3.2.3. Agentes suspensores

Os agentes suspensores são adjuvantes utilizados para aumentar a viscosidade da fase dispersa das suspensões farmacêuticas (29).

Segundo SCHEER (133), o agente suspensor ideal deve produzir a estrutura da fase contínua da suspensão: apresentando alta viscosidade durante o período de armazenagem, com a finalidade de manter as partículas suspensas; ter baixa viscosidade quando submetido a agitação, o que facilita a saída do produto do material de acondicionamento. ROIG MONTEBLANCH e colaboradores (107) apresentam também as principais características dessas substâncias. FAIRBROTHER (53) faz uma revisão analisando os principais aspectos de alguns agentes suspensores.

Em geral os agentes suspensores são macromoléculas que apresentam alto grau de hidratação, possuindo a capacidade de ligação com a água dentro de suas cadeias, o que resulta no aumento da viscosidade da fase líquida. Consequentemente, há a possibilidade de diminuir a interação entre as partículas em suspensão devido a diminuição do movimento browniano (139).

Esses agentes por apresentarem características de aumento de viscosidades são utilizados em outras formas farmacêuticas como emulsões e pomadas (40, 41, 107, 128). São usados como desagregantes em comprimidos e drágeas, pois intumescem na presença

da água em virtude da sua capacidade de ligação hídrica. Possuem também, a características de adesividade sendo utilizados como agregantes de pós.

Há várias maneiras de classificar os agentes suspensores (3, 47, 53, 63, 76, 122, 133, 139). Segundo COLLET e AULTON (35) estes compostos podem ser classificados em:

A. Gomas

a. Goma-arábica - É o agente suspensor clássico, utilizado desde a era egípcia e oficializada na primeira Farmacopéia Americana. É um espessante fraco em comparação a outros agentes suspensores, mas forma uma viscosa dispersão quando se utiliza 4 partes de seu peso com 6 partes de água.(35)

A associação com a goma adragante e amido é oficializada pela Farmacopéia Britânica 80, sendo indicada em preparações orais pela baixa toxicidade. Esta associação favorece também, obter dispersões mais estáveis e de melhores características do que quando se utiliza isoladamente cada um desses agentes suspensores (76).

A goma arábica é um produto natural sendo passível de contaminação, entretanto é estável a altas temperaturas podendo ser esterilizado antes do uso. Apresenta em sua composição o enzima peroxidase que poderia afetar produtos sensíveis à oxidação, todavia este pode ser destruído com aquecimento à temperatura de 100° C (35).

b. Goma adragante - É um extrato obtido de alguns arbusto da espécie *Astragalus*. Apresenta rápido intumescimento em água e sua viscosidade é mais elevada quando comparada à goma arábica em igual concentração (76).

A goma adragante contém frações insolúveis em água mas que podem ser hidratadas em uma semana, conseqüentemente a viscosidade máxima da goma é alcançada somente após esse período (35).O pH ideal para que a dispersão mantenha a viscosidade é de 4,0 a 7,5.

WILSON e ECANOW (153) não recomendam utilização da goma adragante em suspensões de subnitrato de bismuto pois ocorre a reação química dos grupos ácidos da goma hidratada com as cargas presentes na superfície das partículas do fármaco.

c. Goma-xantínica - É um poli-heterosacarídeo semi-sintético, constituído de sal de sódio, potássio ou cálcio e da parte acetilada de um polissacarídeo de alto peso molecular (30, 35, 159)

Essa goma apresenta dispersibilidade tanto em água fria como em água quente. Pseudo-soluções aquosas exibem características pseudoplásticas e em concentração de 0,5% (p/v) produz uma alta viscosidade (30, 127).

É estável em extensa faixa de pH e de temperatura, e menos sensível a presença de sais do que a maioria dos outros polímeros iônicos. Pode-se preparar uma solução à 1% (p/v) para se armazenada e posteriormente utilizada desde que esteja presente um conservante adequado (35).

A associação de goma-xantínica com o silicato de alumínio e magnésio, 1:9 ou 1:2, obtêm-se suspensões adequada quanto a viscosidade e fluxo da fase dispersante(30).

d. Alginato de sódio - É um derivado de algas que apresenta como principal componente o sal sódico do ácido algínico. Na concentração de 1% (p/v) produz viscosa dispersão em água comparável a viscosidade da Mucilagem de Adragante da Farmacopéia Britânica. Apresenta caráter aniônico, sendo incompatível com substâncias catiônicas, metais pesados, sais de cálcio e sais de fenilmercúrio (35).

Na preparação da pseudo-solução recomenda-se a utilização de etanol, glicerina ou propilenoglicol na concentração de 2 a 4 % (v/v) como agente dispersante. O aquecimento acima de 70 °C causa a despolimerização com consequente perda na viscosidade. Para se atingir uma viscosidade estável é necessário deixar em repouso durante 24 horas aproximadamente. Entre o pH 4 a 10 há pequenas mudanças na viscosidade e a máxima viscosidade é alcançada quando o pH encontra-se próximo a neutralidade.

B. Derivados da Celuloses

Particularmente, a metilcelulose, a hidroxipropilcelulose e a carboximetilcelulose são usadas em suspensões aquosas e em outros sistemas dispersos há muitos anos (62, 68, 89, 132, 4). Esses agentes apresentam características reológicas do tipo pseudoplásticas (79, 159).

a. Metilcelulose - É um excelente agente suspensor (90), derivada da celulose obtida pela reação de várias substituições do hidrogênio pelo radical metila, o que produz derivados com diferentes viscosidades (35). Esses apresentam seu nome seguido de um número que indica a viscosidade de uma pseudo-solução à 2% (p/v) em água à temperatura de 20° C. Como agentes suspensores são usados os de alto grau de viscosidade (159). IDSON e BACHYNSKY (76) recomendam a utilização de metilcelulose de baixa viscosidade para formular suspensões com fármacos de difícil molhabilidade, por apresentar alta ação molhante.

A metilcelulose dispersa-se facilmente em água fria mas é insolúvel à quente. Entretanto, recomenda-se para a preparação da mucilagem o seguinte procedimento: dispersar a metilcelulose em 1/3 de água aquecida e manter a mistura em repouso durante 30 minutos; adicionar o restante da água à temperatura próxima de 0° C e após a adição, a mistura deverá ser agitada até a homogeneização. Justifica-se essa técnica, pois com o aquecimento as moléculas de metilcelulose desidratam-se até a temperatura de aproximadamente 50° C onde ocorre sua dispersão, mas apresentam nesta temperatura uma baixa viscosidade. No resfriamento, o sol reverte para gel e então a viscosidade retorna a seu normal (35, 76).

b. Hidroximetilcelulose - É um derivado da celulose obtida pela reação de substituição do hidrogênio pelo radical hidroximetila. Dispersa-se na água e no álcool produzindo dispersões mais límpidas do que àquelas preparadas com a metilcelulose. São utilizadas com os mesmos propósitos que a metilcelulose e quando se necessita produzir preparações com a ausência da características de géis (35, 159)

c. Carboximetilcelulose - Também conhecida como carmelose é obtida pela substituição dos hidrogênios da celulose pelo radical carboxílico (31). A carboximetilcelulose é entre os derivados da celulose a mais amplamente utilizada em preparações farmacêuticas (59). Como agente suspensor é usada na concentrações de 0,25 a 1% p/v (76). Além disso, é empregado em fórmulas cosméticas (61, 69) e em alimentos (31).

A mucilagem é preparada como os outros derivados da celulose e apresenta também as mesmas características de dispersibilidade (76). É rapidamente hidratada com água quente, sob suave agitação e esta propriedade é ainda favorecida pela presença do álcool, da glicerina ou do polissorbato (62).

A carboximetilcelulose é compatível em pH entre 4 a 11, sendo adequada para veicular um grande número de fármacos (35, 41, 90, 139). Entretanto, este agente por ser de natureza aniônica, é incompatível com ácidos fortes e íons de metais pesados (35, 61, 76, 121)

É um agente suspensor pseudoplástico (45, 68, 69, 80, 140, 159), apresentando também tixotropia, característica não marcante em outros derivados da celulose (139).

A associação com outros agentes suspensores tem sido estudada com o intuito de investigar o sinergismo reológico (30, 4). A mistura com o Veegum HV^R em partes iguais é bastante utilizada, resulta em um veículo de excelentes características pseudoplástica e tixotrópicas (140). VAN OUDTSHOORN e POTGIERTER (150)

verificaram em seus experimentos que a associação foi adequada para suspensão de sulfadiazina mas não para suspensão de sulfadimidina. KELLAWAY e NAJIB (87) recomendam a associação de carboximetilcelulose com polivinilpirrolidona para induzir a floculação da sulfadimidina.

WALKER e WELLS (152) observaram o aumento da viscosidade da carboximetilcelulose em associações com outros derivados não iônicos da celulose. Esta combinação apresenta sinergismo devido a ocorrência de ligações cruzadas entre esses derivados.

C. Argilas

O nome montmorilonita é usado também para identificar o grupo das argilas. A origem desse nome deve-se a Damour e Salvat que em 1847 identificaram este tipo de mineral proveniente de Montmorillon na França (9).

Várias argilas são utilizadas como agentes espessantes. São silicatos coloidais hidratados naturais, tais como a bentonita, hectorita e o silicato de alumínio e magnésio (9).

MOES (105) e SAKASHITA et alii (128) descrevem a estrutura dessas montmorilonitas como sendo compostas por finas partícula laminares arrançadas em três camadas: duas tetraédricas externas e uma octaédrica interna,.

As argilas hidratam-se rapidamente, absorvendo muito mais vezes o seu volume em água, para produzir uma dispersão na forma de sol ou gel dependendo de sua concentração (26, 35). A forma sol é mais adequada para suspender fármacos pesados e de difícil molhabilidade. (35).

Esses agentes possuem propriedades tixotrópicas e de fluxo do tipo plástico (45, 57, 60, 76, 90, 122). São muitas vezes empregadas em associação com agentes suspensores pseudoplásticos como os alginato de sódio e os derivados da celulose (9).

Segundo IDSON e BACHYNSKY (76) são substâncias insípidas e de características aniônicas que podem adsorver fármacos amargos, possibilitando obter suspensão com sabor adequado.

As argilas não favorecem o crescimento de microorganismos mas não inibem o seu crescimento; portanto há necessidade da utilização de um agente antimicrobiano. Em virtude de sua origem podem estar contaminados com esporos de microorganismos.

Devem ser esterilizadas antes do uso em produtos farmacêuticos, especialmente se forem aplicados em peles danificadas (35).

Na preparação do sistema disperso das argilas recomenda-se a adição de pequenas quantidades do pó na água fria ou quente, sob agitação. A incorporação em água aquecida acelera a dispersão, mas não devem ser adicionados outros componentes da formulação, até que este agente seja totalmente disperso (26, 76, 105, 139).

a. Bentonita - Apresenta cerca de 90% de montmorilonita e silicato de alumínio; e os 10% restante de fragmentos de outros minerais. É insolúvel em água mas entumece 30 vezes seu volume quando umedecido e é insolúvel na presença de solventes orgânicos. A suspensão de bentonita em água (1:50) tem pH entre 9 e 10 (9)

Uma dispersão contendo 7% (p/v) em água é líquida mas à 25% (p/v) apresenta consistência da lanolina (35).

A bentonita é um coloide reversível podendo ser hidratada e dessecada várias vezes, desde que se utilize uma água adequada.

Essa argila não é absorvida pelo trato gastro-intestinal e não apresenta toxicidade. É utilizada como agente dispersante em muitas preparações farmacêuticas de uso interno ou externo.

b. Silicato de alumínio e magnésio - É dentro do grupo de montmorillonita o mais amplamente empregado, como agente suspensor (32, 130), em sistemas farmacêuticos de uso oral e externo.

O silicato de alumínio e magnésio complexo possui várias propriedades vantajosas, entre elas, uma coloração clara, inodoro, insípido, com alto grau de pureza, facilidade de hidratação do pó em água, viscosidade relativamente uniforme (129). Apresenta vantagem sobre a bentonita por ter uma coloração mais clara, o que resulta em melhor aspecto na preparação final (159)

São disponíveis em vários graus de viscosidade e com características particulares conforme a necessidade do formulador (9, 35). Essas argilas são conhecidas como Veegum^R e comercializadas com várias siglas.

O tipo HV apresenta alta viscosidade em relação a outros, possuem pH alcalino de aproximadamente 9,6 mas são adequados como agentes suspensores em produtos com valores de pH variando de 5 a 11 (76). É compatível com solventes orgânicos, porém ao se preparar a dispersão de Veegum HV^R a 1% deve se adicionar etanol na quantidade máxima

de 60%. Para preparações à 2% o teor alcóolico da dispersão não deverá ultrapassar a 40%. Pode-se juntar da mesma maneira a glicerina, o propilenoglicol, o polietilenoglicol e o sorbitol (129).

Entretanto a associação de Veegum HV^R com sorbitol na mesma proporção pode ser empregada como adjuvante farmacotécnico alternativo da goma adraganta (54). A associação com outros agentes suspensores tem sido estudadas por vários pesquisadores na formulação de suspensões (30, 53, 103, 141, 150).

c. Hectorita - Em 1936 FOSHAG e WOODFORD descreveram uma interessante aa proveniente de Hector, Califórnia, a qual STRESSE e HOFMANN propuseram o nome de Hectorita. Essa argila é muitas vezes chamada também de hectorita magnésia. É similar à bentonita exceto em apresentar característica de entumescimento mais rápida (35) e formar películas mais duráveis quando se utiliza em pomadas (76). A dispersão à 1% ou 2% forma um gel claro com características tixotrópicas.

D. Agentes suspensores sintéticos e semi-sintéticos

a. Carbomer (polímero carboxivinílico) - É um polímero de alto peso molecular do ácido acrílico, com ligações cruzadas e com o radical alílico ligado a sacarose (35).

O carbomer é sensível a oxidação quando exposto a luz e sua estabilidade é melhorada quando se adiciona um antioxidantes e um quelate (105).

Esse polímero apresenta caráter ácido, devido a alta proporção de grupos carboxílicos presente na molécula, e necessita ser neutralizado para alcançar a sua viscosidade máxima. Os neutralizantes utilizados para essa finalidade são o hidróxido de sódio, a etanolamina e a trietanolamina (105). A faixa de pH adequado para se obter a máxima viscosidade está entre 6 e 11; e apresenta nítida redução desta característica nos limites abaixo e acima desses valores. Além disso, cations bivalentes como Ca^{++} , Zn^{++} e Mg^{++} ou trivalentes como Al^{+++} favorecem o fenômeno da oxidação reduzindo drasticamente a viscosidade da dispersão do carbomer.

São comercializadas com o nome de Carbopol^R e Acrisint^R. De maneira geral o Carbopol^R 941 é mais resistente a ação de eletrólitos que os do tipo 940 e 943 (105).

A dispersão neutralizada pode ser armazenada a temperatura ambiente (22 - 25° C) ou no refrigerador. Os geis são estáveis e não são sensíveis a ação de microrganismo (105), mas COLLET e AULTON (35) recomendam a utilização de conservantes. Os

polímeros de ácido acrílicos não são tóxicos por via oral e quando usado por via oftálmica não provocam irritação nem sensibilidade aos olhos (105).

b. Glicolato de amido sódico - É um sal sódico de eter carboxílico de amido, obtido pela esterificação parcial dos três grupos hidroxílico presente em cada anel glucopiranosídeo da molécula polimétrica do amido natural. É facilmente disperso em água aquecida sob agitação. Apresenta característica pseudo-plástica e tixotrópica (127). Na concentração de 2% (p/v) tem valores de pH entre 5,5 e 7,5 (141)

No mercado brasileiro é conhecido com o nome de Viscosol^R. Como agentes suspensores são usados o do tipo RV para as suspensões clássicas e do tipo IV para as extemporâneas. Em virtude de suas características, encontra aplicação como aglutinante e desagregante em comprimidos (88, 101).

3.2.4. POLIÓIS

Os polióis são hidrocarbonetos hidrófilos contendo em sua constituição vários grupos hidroxilas. Possuem em geral, viscosidade elevada e alguns sabor doce. Por apresentarem essas características, os polióis podem auxiliar a função dos agentes molhantes, espessantes e edulcorantes.

A glicerina, o sorbitol, o manitol e o propilenoglicol ajudam na molhabilidade do fármaco insolúvel, proporcionando o deslocamento do ar que envolve as partículas e facilitando o contato do líquido com o sólido, mas não são tão eficientes quanto aos tensoativos (78, 122, 139).

ZATZ e LUE (158) verificaram que existindo polissorbato 20 e 80 na formulação, os polióis promovem a desidratação destes tensoativos, fato que provoca a floculação das suspensões.

3.2.5. CONSERVANTES

Em produtos farmacêuticos deve-se comprovar a ausência de contaminação microbiana. Os conservantes são substâncias usadas para reduzir a probabilidade de crescimento e sobrevivência de microrganismos contaminantes prováveis. O objetivo da conservação desses produtos é assegurar sua integridade microbiológica durante os períodos de estocagem e utilização pelo consumidor. A presença de antibióticos nesses

medicamentos não exclue a utilização de conservantes, pois pode ocorrer a presença de fungos ou de outros microrganismos resistentes a esse fármaco (116).

As características de um conservante ideal foram discutidas por CROSHAW (39) e ORTH & LUTES (114) Seu conhecimento é relevante, fornecendo subsídios para o uso racional desse adjuvante em formulações farmacêuticas. Os principais conservantes e suas especificações são relacionadas por ORTH (116) e em outras publicações (97, 36), assim como, compostos que contribuem para melhorar a sua atividade (37).

A ação conservante em uma formulação não deve ser somente considerada como sendo específica do agente conservador. Deve-se observar as propriedades físico-químicas e os fatores extrínsecos que influenciam na estabilidade do produto (34, 38), e também em relação ao provável contaminante, sua natureza, estrutura e sua capacidade de resistência frente ao conservante.

Para o formulador, os fatores que representam o meio ambiente onde o conservante atua são os mais importantes, por serem controláveis e sujeitos a alterações. Dentre eles, tem-se a concentração do conservante, as modificações do pH do produto, a sua interação com os demais componentes da fórmula e a temperatura de armazenamento.

A concentração do agente antimicrobiano apresenta uma relação exponencial com a morte microbiana (114), que pode ser descrita pela equação:

$$C_1^n t_1 = C_2^n t_2$$

Onde C_1 e C_2 representam duas concentrações do agente microbiano, t_1 e t_2 os respectivos tempos para obter-se o mesmo nível de redução da contagem inicial de microrganismos viáveis e n é a medida do efeito da mudança na concentração (ou nível de diluição).

Por meio de um estudo cinético pode-se calcular o n , graficamente, ou através da equação anterior. Fundamentados nessa equação, DENYER & WALLHAEUSSER (42) concluíram que, quando ocorre aumento na concentração do conservante, a atividade é beneficiada para compostos com altos valores de n . Porém, cuidados devem ser tomados na ocorrência da diluição, já que para os conservantes de alto coeficiente a atividade antimicrobiana é severamente afetada.

A escolha do pH de uma preparação farmacêutica é baseada principalmente na solubilidade e na estabilidade do(s) fármaco(s) que a compoem, bem como, na tolerância dos tecidos que são expostos à preparação.

No caso das suspensões farmacêuticas, o pH pode ser escolhido em função das propriedades reológicas do agente suspensor ou da aparência final do produto. Contudo, esse parâmetro pode também influenciar a disponibilidade da forma ativa do conservante (11).

De acordo com ORTH (116) vários conservantes têm atividade comprometida pelo pH do meio, o qual influenciando o estado iônico da substância modifica as interações com os grupos reativos das células microbianas. Entretanto, a variação do pH não atinge somente a atividade antimicrobiana do conservante, devendo-se considerar também, a estabilidade do conservante, a interação com os componentes da fórmula e o seu coeficiente de distribuição nos sistemas multifásicos, como as suspensões e as emulsões.

Na suspensão há maior dificuldade de proteger contra ataque microbiano em virtude da interação entre conservante e os componentes da fórmula (148)

VANHAECK e colaboradores (151) estudando suspensões antiácidas verificaram que oito entre doze fórmulas comercializadas não se encontravam dentro das especificações de qualidade microbiológicas de acordo com a Farmacopéia Americana XXII edição (144).

Os fármacos podem interagir com os conservantes como mostram a pesquisa de BEAN & DEMPSEY (10), onde partículas de penicilina benzatina adsorveram o cloreto de benzalcônio.

A interação com agentes suspensores resulta, em geral, no decréscimo da atividade antimicrobiana pela redução de sua concentração livre (40, 64, 95, 102, 156). Os pesquisadores MACCARTHY & MYBURG (93) estudaram o fenômeno da adsorção de oito conservantes pela goma adragante. VAN DOORNE (148) classificou a interação dos agentes suspensores com os antimicrobianos, segundo a extensão do antagonismo, em 4 categorias: altamente antagonista (atapulgita, bentonita, Veegum^R, trisilicato de alumínio e polissorbato); moderadamente antagonista (caulim, goma-tracaganta e alginato de sódio); levemente antagonista (talco, goma-arábica, ágar, carboximetilcelulose sódica, metilcelulose, amido, Aerosil^R e calamina; não antagonista (polietilenoglicóis).

A grande maioria das publicações que reportam a interação entre agente suspensor e conservantes foram realizadas em sistema de dispersão simples. Entretanto, MACCARTHY e MYRBURG (93) pesquisaram a interação em suspensões mais complexas e concluíram que a atividade do conservante não pode ser predita antes de um estudo minucioso, pois os outros componentes da formulação podem atuar sinergicamente ou antagonicamente com os conservantes.

BOLLE e MIRIMANOFF (15) foram os pioneiros na pesquisa da interação entre conservantes e emulsificantes não iônicos. Os conservantes, em sua maioria, são compostos lipófilos ou que contém uma parte substancial lipófila. Apenas os derivados do fenilmercúrio e o Bronopol^R não apresentam esta característica. A natureza lipofílica das moléculas propicia a solubilização micelar pelos tensoativos (141), ocorrendo a interação que pode levar à diminuição ou eliminação da concentração livre dos conservante na parte aquosa, o que conduz a ineficácia antimicrobiana (117).

Na literatura encontram-se muitas publicações procurando esclarecer os mecanismos e o cálculo das concentrações necessárias para melhorar a atividade dos conservantes (6, 8, 49, 94). KAZMI e MITCHELL (86) desenvolveram um modelo matemático para explicar a interação físico-química entre o conservante e o tensoativo. A teoria era baseada na solubilidade do conservante nas fases da emulsão, coeficiente de partição óleo e água. YAMAGUCHI e colaboradores (156) estudaram o efeito de vários tensoativos não iônicos na atividade do butilparabeno. O metilparabeno pode ser solubilizado pelo laurilsulfato de sódio abaixo da concentração crítica do tensoativo (0,2%) (147).

A temperatura de armazenagem é um dos fatores extrínsecos que permite ser controlada. Sabe-se que a temperatura afeta no estado metabólico do microorganismo, podendo propiciar o aumento ou a diminuição da atividade dos conservantes e afetar na interação do conservantes com outros componentes da formulação, ou mesmo com o material de acondicionamento. (148).

VAN DOORNER e DUBOID (146) verificaram que havia um aumento do coeficiente de partição do metilparabeno, no intervalo entre 20 e 70° C, quando presente no sistema bifásico constituído de água e cetiol.

Apesar de algumas interações de conservantes com componentes das fórmulas serem baseadas em fenômenos conhecidos, ocasionalmente estes comportamentos não são previsíveis devido as características de certos microrganismos em conduzirem a um fenômeno inesperado e imprevisível. As interações são complexas e numerosas impossibilitando prever a atividade do conservante em uma formulação. Entretanto é possível prever quantitativamente a atividade antimicrobiana de um conservante em uma formulação

Para o estudo da fórmula, quanto ao sistema de conservantes antimicrobianos, pode ser utilizado o teste de eficácia de conservante que possibilita avaliar e comparar diversos sistemas conservantes. O princípio do método é desafiar a formulação completa

frente a determinados microrganismos que representem um potencial contaminante no ambiente em que a preparação é fabricada, armazenada e utilizada (1, 43, 131)

Os testes oficiais de eficácia de conservante para produtos de uso oral estão inscritos na Farmacopéia Britânica (20) e Alemã (43). São métodos criteriosos porém apresentam a limitação relacionada ao tempo necessário para obtenção de resultados que é no mínimo de 28 dias.

Os testes de eficácia de conservante são classificados em métodos oficiais e não oficiais. Os métodos oficiais, tais como os incritos na Farmacopéia Americana (144) , Alemã (43) e Britânica (20), são mais criteriosos porém apresentam a limitação relacionada ao tempo necessário para obtenção de resultados que é no mínimo de 28 dias, como descritos no item 2.2 a. Os métodos não oficiais como o de Regressão Linear (115), Desafio presuntivo ou de Conservação Acelerada requerem menores períodos para obter-se o resultado. Entretanto, a principal limitação destes testes é em relação a microrganismos resistentes.

3.3 Otimização

Em uma pesquisa, os dados experimentais somente passam a ter significado intrínseco quando são relacionados a um modelo conceitual do fenômeno, como explica BARATA (6).

Quando o fenômeno estudado é bastante conhecido é possível baseando-se em considerações teóricas chegar a função conhecida como " Modelo Mecanístico ou Teórico " por ser fundamentada diretamente na apreciação da teoria mecanística ou física que governa o sistema em estudo (18)

No caso das formas farmacêuticas em que as regras para a formulação não são universais, o mecanismo que rege o processo é complexo e não suficientemente conhecido, portanto, não permite uma postulação do modelo teórico. Nesses casos, um dos recursos é a utilização de um modelo empírico que permita limitar as regiões das variáveis envolvidas no processo

O modelo empírico pode ser obtido por meio de um planejamento fatorial com a consequente análise estatística dos resultados experimentais (16). O projeto fatorial consiste em relacionar as variáveis independentes, tais como, os componentes da formulação, a concentração dos componentes com uma ou mais variáveis dependentes ou respostas, por exemplo, o pH, a viscosidade e o volume de sedimentação de suspensões farmacêuticas, visando contemplar determinações simultâneas de efeitos de vários fatores e suas interações. O projeto fatorial permite estabelecer a região experimental a ser estudada e prever com maior confiabilidade o mecanismo que rege o fenômeno (18, 137).

Os métodos de otimização (65, 66, 67) com o arranjo fatorial permitem obter modelos polinomiais (superfície de resposta) baseados nos resultados experimentais, onde os coeficientes representam os efeitos e as interações dos fatores que envolvem a formulação farmacêutica.

Estabelecida as equações polinomiais ou superfícies de resposta, a formulação ótima (ou a região da formulação ótima) pode ser encontrada por meio de uma análise canônica (137). O uso de computadores, programas de cálculos, auxiliam a busca da região ótima, permitindo a identificação e representação do fenômeno (14). A metodologia da superfície de resposta é a representação geométrica da resposta, similar a um mapa que

possibilita definir a região ótima visível quando tem-se até duas variáveis independentes. Vários autores utilizando essa metodologia conseguiram estabelecer as condições ótimas de formulações farmacêuticas (12, 58, 126, 135, 136).

O método "simplex" permite também conhecer os efeitos das diferentes variáveis e possibilita pesquisar uma formulação ótima (65, 137). Essa técnica matemática de otimização, consiste em utilizar os resultados de experimentos anteriores ou prévios para definir os parâmetros para os próximos experimentos na procura do modelo polinomial mais adequado.

A aplicação de métodos de otimização estatística permite de forma racional atingir o objetivo fixado, alcançando por meios dessas técnicas regiões experimentais que contenham as melhores condições de operação do processo e, também, conhecer melhor os mecanismos que envolvem o processo que regem a formulação (12).

CAPÍTULO 4

MATERIAL E MÉTODOS

Neste capítulo são descritos as matérias-primas e os equipamentos utilizados na parte experimental, bem como a metodologia adotada e o planejamento estatístico nas diversas etapas do desenvolvimento do trabalho proposto.

4.1 Material

4.1.1. Matérias-primas

- Ácido sórbico, USP XXII.
- Álcool etílico, Farm. Bras.III, Álcool Ferreira S.A.
- Benzoilmetronidazol, micronizado.
- Bronopol^R, 2-Bromo-2-nitropropano, 1,3-diol, Croda do Brasil Ltda.
- Carbomer, Acrisint^R, USP XXII.
- Carboximetilcelulose sódica, Ultracell 2-600HP, Farm. Bras. III, Ultra-química S.A.
- Glicerina, Farm. Bras. II.
- Glicolato de amido sódico, Viscosol RV^R, USP XXII.
- Metilparabeno, Nipagin^R, Farm. Bras. III.
- Nipaset^R, associação de metilparabeno, etilparabeno e propilparabeno.
- Nopcowet 75^R, Dioctilssulfossucinato de sódio, BP 1973, .
- Polietilenoglicol 400, Farm. Bras. II.
- Polissorbato 60, Tween 60^R, USP XXII.
- Polissorbato 80, Tween 80^R, Farm. Bras. III.
- Propilenoglicol, Farm. Bras. II.
- Sacarina sódica, Farm. Bras. II.
- Silicato de alumínio e magnésio, Veegum HV^R.
- Sorbitol 70%, USP XXII.
- Unitol L 40^R, derivado do álcool laurílico.

4.1.2. Equipamentos

Os equipamentos utilizados para a preparação e análise das suspensões estão apresentados a seguir:

- Agitador mecânico Fanen, Contrac modelo 1000
- Balança semi-analítica, E. Metler
- Banho-maria FABBE modelo 169
- Espectrofotometro BECKMAN DU-70
- Estufa Bacteriológica FANEM
- Densímetro, INCONTERM, 20 °C
- Conjunto de Tamises, Granutes
- Potenciômetro, "Incibras"
- Viscosímetro rotacional "Rheotest 2.1" - VEBMLW Prüfgeräte - Werke Medingen

4.2 Métodos

4.2.1. Técnica de preparo das suspensões de Benzoilmetronidazol

a) Preparação do meio suspensor

O agente suspensor foi dispersado em um béquer de 100,0mL contendo o poliol. A seguir foram adicionado 30,0mL de água fervente e a mistura foi homogeneizada durante 10 minutos, com agitação mecânica, mantendo-se a temperatura de aproximadamente 80-85° C, em banho-maria. A dispersão foi resfriada naturalmente a temperatura ambiente e mantida em repouso durante 20 horas. Decorrido esse tempo, o peso do material foi ajustado para 65,0g com água destilada e a dispersão foi submetida à agitação durante 5 minutos em condições idênticas à anterior, porém à temperatura ambiente.

Nas suspensões que continham o Ultracell 2-600HP/C^R e Viscosol RV^R, como agentes suspensores, a técnica de preparação do meio suspensor, foi efetuada segundo a descrição. Entretanto, para aquelas que continham Veegum RV^R, o poliol foi adicionado no ajuste de peso com a água destilada. Para o Acrisint 400^R, a preparação foi realizada à temperatura ambiente.

b) Dispersão do Benzoilmetronidazol

Pesou-se o agente tensoativo em um béquer de 50,0mL, adicionaram-se 25,0mL de água destilada e a seguir a mistura foi aquecida em banho-maria a 50-60° C, acompanhada de agitação mecânica de aproximadamente 50rpm durante 60 segundos. Após o resfriamento a dispersão foi vertida em um gral com capacidade de 50,0mL no qual o fármaco foi disperso, aos poucos, com auxílio do pistilo até a homogeneização total.

c) Preparação da suspensão

O meio suspensor, a dispersão do fármaco, a solução de conservante e da sacarina sódica, previamente preparados, foram transferidos para um copo graduado de 125,0mL. O volume final foi completado para 100,0mL com água destilada e a suspensão final foi homogeneizada, com agitação mecânica de aproximadamente 250rpm, durante 2

minutos. O produto permaneceu em repouso durante 20 horas, à temperatura ambiente. Decorrido este tempo, homogeneizou-se em condições idênticas ao anterior.

4.2.2. Determinação de parâmetros analíticos do benzoilmetronidazol e das suspensões formuladas.

Inicialmente, determinou-se o volume e densidade aparente, bem como o teor do fármaco antes do preparo das suspensões.

O acompanhamento da estabilidade física das suspensões foi através de determinação do pH, do volume de sedimentação e da viscosidade. O estudo foi conduzido de forma a efetuar análises após a preparação e após uma semana de observação, para as suspensões de benzoilmetronidazol do arranjo quadrado greco-latino, planejamento estatístico com quatro fontes de variação, descrito a seguir no item 4.2.3.1. Para as suspensões preparadas na etapa de otimização, item 4.2.3.3., os ensaios foram os mesmos após uma semana de preparação.

Para a fórmula otimizada, além das determinações físicas realizadas em condições idênticas à anterior, foi analisado o teor do fármaco e avaliada a eficiência de conservantes.

4.2.2.1 Volume e densidade aparentes do benzoilmetronidazol

Pesaram-se 50,0g de benzoilmetronidazol e transferam-se para um copo graduado de 125,0mL, em forma de sino. O recipiente foi submetido à queda livre, de altura de 2,0 a 3,0cm, sobre a superfície coberta de borracha. Esta operação foi manual, repetindo-se a queda por 200 vezes, com intervalo de 2 a 3 segundos entre as operações. O volume do pó foi determinado pela leitura após a compactação (27, 40). O valor de volume aparente do fármaco foi obtido pela média das 10 determinações (149).

A densidade aparente foi calculada dividindo-se o peso da substância pelo respectivo valor de volume obtido (92).

4.2.2.2 pH

A determinação dos valores de pH das suspensões formuladas foi efetuada em potenciômetro, à temperatura de 25^o C. Para isto, foi utilizado cerca de 10,0mL de amostra previamente homogeneizada (110).

4.2.2.3 Viscosidade

A viscosidade aparente foi determinada em viscosímetro rotacional, à temperatura para 25° C. O volume de amostra utilizado foi de 25,0mL sendo submetido ao gradiente de cisalhamento de 524,90 s⁻¹.

4.2.2.4 Volume do fármaco disperso

As suspensões acondicionadas em proveta de 100,0mL com tampa, mantidas em repouso à temperatura ambiente, serviram para determinação do volume ocupado pelo fármaco disperso (Vs). Calculou-se o volume de sedimento pela relação Vs/Vo X 100, sendo Vo o volume total da suspensão (149).

4.2.2.5 Classificação das suspensões

As amostras de suspensão foram submetidas à observação macroscópica, verificando-se o tipo de sedimento formado pela partículas do fármaco suspenso. Foram classificados em: "Floculado" (F), quando o sedimento formado era não compactado e fácil redispersão, que caracteriza o sistema floculado; "Compactado" (C), quando o sedimento formado era de difícil resuspensão, característico do sistema desfloculado.

A característica de ressuspensão foi determinada mediante inversão manual de 180 das amostras acondicionadas em provetas de 100,0mL. A classificação da mesma foi de acordo com o número de inversões necessárias para a completa homogeneização da suspensão, considerando-se fácil (Fa), quando exigia de 1 a 5 vezes; regular (Re), de 6 a 10 vezes e difícil (Di), quando exigia inversão maior que 11 vezes.

4.2.2.6 Doseamento do Benzoilmetronidazol

O teor do fármaco na matéria prima e nas suspensões foi efetuada por meio de determinações espectrofotométricas segundo o método da Ficha Técnica nº 301 da Central de Medicamentos (CEME).

A preparação da solução-padrão foi realizada mediante a pesagem de, exatamente 64,0mg de benzoilmetronidazol, com teor de 98,0 %. Esta tomada de ensaio foi transferida quantitativamente para um balão volumétrico de 100,0mL. Foram adicionado 5,0mL de dimetilformamida, completando-se o volume com metanol P.A. Desta solução foi transferida a alíquota de 5,0mL para um balão volumétrico de 200,0mL e o mesmo solvente foi empregado para completar o volume.

A solução teste para a matéria prima foi obtida mediante tomada de ensaio em quantidades semelhantes ao padrão. Empregou-se o mesmo solvente e igual esquema de diluição da solução-padrão.

A solução teste para as suspensões foi obtida por meio da tomada de ensaio de 5,0 mL da suspensão. Transferiu-se essa tomada para um balão volumétrico de 100,0 mL, adicionou-se 5,0 mL de dimetilformamida e completou-se o volume com metanol PA. A solubilização inicial foi auxiliada com o ultra-som durante 10 minutos. Decorrido este período a preparação foi filtrada por papel de filtro Whatman n.1. Do filtrado tomou-se 5,0 mL e diluiu-se para 100 mL com metanol PA, desta solução tomou-se uma alíquota de 5,0mL e diluiu-se para 50,0 mL com o mesmo solvente da solução anterior

Após a diluição, foram lidas as absorbâncias das soluções de concentração de leitura, em cubetas de 1,0cm e em comprimento de onda de 308 nm. O metanol P.A. foi utilizado como branco para zerar o aparelho.

O cálculo do teor de benzoilmetronidazol foi realizado segundo a fórmula:

$$\frac{\text{mg de benzoilmetronidazol}}{\text{dose terapêutica}} = \frac{K \times D \times VM}{TE \times 1000}$$

Onde:

$$K = \frac{A \times C}{P}$$

A = absorbância lida da amostra

P = absorbância lida do padrão

C = concentração de leitura do padrão mcg/mL

D = fator de diluição da amostra

VM = volume da dose terapêutica

TE = tomada de ensaio

O resultado de cada amostra foi considerado a média aritmética de determinações em duplicata.

4.2.2.7 Avaliação da eficácia antimicrobiana do ácido sórbico na suspensão de benzoilmetronidazol

Para o estudo da fórmula quanto ao conservante utilizou-se o teste de eficácia de conservante ou teste do desafio, "challenge test". O princípio do método é desafiar a formulação completa frente a determinados microorganismos que possam representar um possível contaminante do ambiente no qual a preparação é fabricada, armazenada e utilizada.

O teste foi baseado na Farmacopéia Britânica (20) e os microorganismos utilizados foram : *Echericia coli* (ATCC 8.739) *Candida albicans* (ATCC 10.231), *Aspergillus niger* (ATCC ATCC 16.404), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9.027) e *Stafilococcus aureus* (ATCC 6.538).

Os meios de cultura foram o agar caseína-soja para bactérias e o Sabouraud para bolores e leveduras. Na realização do teste utilizou-se a água peptonada a 0,1% (p/v) para preparar as suspensões de microorganismos.

O teste propriamente dito constou das seguintes etapas: após o repique do microorganismo preparou-se uma suspensão do mesmo utilizando-se a solução peptonada e no caso do *A.niger* utiliza-se a solução contendo 0,05 % (p/v) de polissorbato 80. Determinou-se o número de UFC (unidade formadora de colônia) de cada suspensão de microorganismo e este valor serviu para determinar a concentração de inóculo a ser utilizado no teste. Inoculou-se assepticamente a suspensão de cada microorganismo na proporção de 0,1 mL para cada 20,0 mL do produto obtendo-se uma concentração final de microorganismos entre 10^5 - 10^6 UFC/mL do produto. O controle da inativação dos microorganismos pelo sistema conservante do produto foi feita após a adição do inóculo 6, 24 e 48 horas; e após 7, 14, 21 e 28 dias. Na determinação de microorganismo viáveis nos diferentes tempos, adicionaram-se ao meio de cultura substâncias que neutralizaram o conservante para assegurar a inativação da sua atividade biostática. Paralelamente foi feito o controle para verificar a viabilidade das células em solução peptonada.

O critério de interpretação dos resultados foi segundo a Farmacopéia Britânica (20), que considera eficaz o sistema conservante quando o número de bactérias por mililitro ou grama do produto for reduzido por um fator não menor que 10^2 em 7 dias de teste e nenhum aumento deverá ocorrer até o final do teste. Para bolores e leveduras não deverá haver aumento do número de microorganismos por mililitro ou grama do produto em 14 dias do desafio e nenhum aumento do número de microorganismo poderá ocorrer até o final do teste.

4.2.3. Planejamento Estatístico de Ensaios Experimentais

4.2.3.1 Planejamento com quatro fontes de variação

O estudo das fórmulas de suspensão de benzoilmetronidazol foi baseado nos projetos fatoriais fracionados, no caso o quadrado greco-latino. Esta técnica permite combinar o agente tensoativo, agente suspensor, polióis e, conservantes com vistas à análise estatística.

O modelo empírico utilizado foi:

$$y = o + et + ep + es + ec + e \quad (4.1)$$

onde:

y = variável resposta

o = média

et = efeito dos tensoativos

ep = efeito dos polióis

es = efeito dos suspensores

ec = efeito dos conservantes

e = variação dentro do tratamento ou erro

Para esse experimento utilizou-se o projeto fatorial fracionado do tipo 4X4, onde o número de observações foi de 1/4 do modelo fatorial completo. Este arranjo é denominado de quadrado greco-latino.

A montagem do quadrado foi baseada em tabelas e roteiros já pré-estabelecidos (18). Consideraram-se quatro fontes de variação representadas por: letras romanas maiúsculas, letras gregas, números arábicos e números romanos, para as variáveis polióis, conservantes, agente tensoativo e agente suspensor, respectivamente.

O quadrado greco-latino empregado para o arranjo dos ensaios experimentais, bem como todos os insumos utilizados nessa primeira fase do trabalho (seleção de variáveis) estão apresentados a seguir.

QUADRADO GRECO-LATINO

colunas		1	2	3	4
linhas	I	A α Y ₁	B β Y ₂	C γ Y ₃	D δ Y ₄
	II	B δ Y ₅	A γ Y ₆	D β Y ₇	C α Y ₈
	III	C β Y ₉	D α Y ₁₀	A δ Y ₁₁	B γ Y ₁₂
	IV	D γ Y ₁₃	C δ Y ₁₄	B α Y ₁₅	A β Y ₁₆

AGENTES TENSOATIVOS

- 1-Unitol L 40^R
- 2-Nopcowet 75^R
- 3-Tween 80^R
- 4-Tween 60^R

POLIÓIS

- A - Sorbitol 70%
- B - Glicerina
- C - Propilenoglicol
- D - Polietilenoglicol 400

AGENTES SUSPENSORES

- I-Veegum HV^R
- II-Ultracell 2-600HP/C^R
- III-Acrisint 400^R
- IV-Viscosol RV^R

CONSERVANTES

- α – Nipaset^R
- β – Bronopol^R
- γ – Ácido sórbico
- δ – Nipagin^R

A associação das diferentes variáveis resultaram em 16 fórmulas constituídas cada uma por um agente suspensor, um agente tensoativo, um poliol e um conservante, como apresentadas a seguir:

FÓRMULAS

1.	Benzoilmetronidazol	6,4g
	Unitol L 40 ^R	1,0g
	Veegum HV ^R	1,5g
	Sorbitol 70%	30,0g
	Nipaset ^R	0,1g
	Sacarina sódica	0,4g
	Água destilada qsp	100,0mL
2.	Benzoilmetronidazol	6,4g
	Nopcowet 75 ^R	0,5g
	Veegum HV ^R	1,5g
	Glicerina	30,0g
	Bronopol ^R	0,02g
	Sacarina sódica	0,4g
	Água destilada qsp	100,0mL
3.	Benzoilmetronidazol	6,4g
	Tween 80 ^R	1,0g
	Veegum HV ^R	1,5g
	Propilenoglicol	30,0g
	Ácido sórbico	0,1g
	Sacarina sódica	0,4g
	Água destilada qsp	100,0mL
4.	Benzoilmetronidazol	6,4g
	Tween 60 ^R	1,0g
	Veegum HV ^R	1,5g
	Polietilenoglicol 400	30,0g
	Nipagin ^R	0,1g
	Sacarina sódica	0,4g
	Água destilada qsp	100,0mL

5.	Benzoilmetronidazol	6,4g
	Unitol L 40 ^R	1,0g
	Ultracell 2-600HP/C ^R	1,5g
	Glicerina	30,0g
	Nipagin ^R	0,1g
	Sacarina sódica	0,4g
	Água destilada qsp	100,0mL
6.	Benzoilmetronidazol	6,4g
	Nopcowet 75 ^R	0,5g
	Ultracell 2-600HP/C ^R	1,5g
	Sorbitol 70%	30,0g
	Ácido sórbico	0,1g
	Sacarina sódica	0,4g
	Água destilada qsp	100,0mL
7.	Benzoilmetronidazol	6,4
	Tween 80 ^R	1,0g
	Ultracell 2-600HP/C ^R	1,5g
	Polietilenoglicol 400	30,0g
	Bronopol ^R	0,02g
	Sacarina sódica	0,4g
	Água destilada qsp	100,0mL
8.	Benzoilmetronidazol	6,4g
	Tween 60 ^R	1,0g
	Ultracell 2-600HP/C ^R	1,5g
	Propilenoglicol	30,0g
	Nipaset ^R	0,1g
	Sacarina sódica	0,4g
	Água destilada qsp	100,0mL

9.	Benzoilmetronidazol	6,4g
	Unitol L 40 ^R	1,0g
	Acrisint 400 ^R	0,1g
	Propilenoglicol	30,0g
	Bronopol ^R	0,02g
	Sacarina sódica	0,4g
	Água destilada qsp	100,0mL
10.	Benzoilmetronidazol	6,4g
	Nopcowet 75 ^R	0,5g
	Acrisint 400 ^R	0,1g
	Polietilenoglicol 400	30,0g
	Nipaset ^R	0,1g
	Sacarina sódica	0,4g
	Água destilada qsp	100,0mL
11.	Benzoilmetronidazol	6,4g
	Tween 80 ^R	1,0g
	Acrisint 400 ^R	0,1g
	Sorbitol 70%	30,0g
	Nipagin ^R	0,1g
	Sacarina sódica	0,4g
	Água destilada qsp	100,0mL
12.	Benzoilmetronidazol	6,4g
	Tween 60R	1,0g
	Acrisint 400R	0,1g
	Glicerina	30,0g
	Ácido sórbico	0,1g
	Sacarina sódica	0,4g
	Água destilada qsp	100,0mL

13.	Benzoilmetronidazol	6,4g
	Unitol L 40 ^R	1,0g
	Viscosol RV ^R	1,5g
	Polietilenoglicol 400	30,0g
	Ácido sórbico	0,1g
	Sacarina sódica	0,4g
	Água destilada qsp	100,0mL
14.	Benzoilmetronidazol	6,4g
	Nopcowet 75 ^R	0,5g
	Viscosol RV ^R	1,5g
	Propilenoglicol	30,0g
	Nipagin ^R	0,1g
	Sacarina sódica	0,4g
	Água destilada qsp	100,0mL
15.	Benzoilmetronidazol	6,4g
	Tween 80 ^R	1,0g
	Viscosol RV ^R	1,5g
	Glicerina	30,0g
	Nipaset ^R	0,1g
	Sacarina sódica	0,4g
	Água destilada qsp	100,0mL
16.	Benzoilmetronidazol	6,4g
	Tween 60 ^R	1,0g
	Viscosol RV ^R	1,5g
	Sorbitol 70%	30,0g
	Bronopol ^R	0,02g
	Sacarina sódica	0,4g
	Água destilada qsp	100,0mL

4.2.3.2 Escolha das melhores fórmulas da suspensão de benzoilmetronidazol

Para a escolha das melhores fórmulas de Benzoilmetronidazol foi realizada uma análise de variância, para a verificação do modelo apresentado na equação 4.1, seguida de uma comparação de médias empregando o teste "t" de Student (18).

A análise de variância seguiu o roteiro mostrado na tabela 4.1, e o cálculo foi conduzido, com um nível de significância de 5%, por meio de programa para tratamento matemático e estatístico de dados experimentais. Este foi desenvolvido no Departamento de Engenharia Química da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Maiores informações para o cálculo das somas quadradas, para este tipo de arranjo, poderão ser vistas na referência (16, 18, 119).

Para a comparação de médias construíram-se as distribuições de referências "t", conforme as escalas de cada fonte de variação (18).

Tabela 4.1 Análise de variância para o arranjo quadrado greco-latino, com repetição.

Fonte de variação	soma de quadrados	graus de liberdade (*)	variância estimada	razão entre variâncias
Média	S_A	1		
Ag. suspensor	S_B	k-1	$S_B/(k-1)$	S_B^2/S_R^2
Ag. tensoativo	S_C	k-1	$S_C/(k-1)$	S_C^2/S_R^2
Poliis	S_D	k-1	$S_D/(k-1)$	S_D^2/S_R^2
Conservantes	S_E	k-1	$S_E/(k-1)$	S_E^2/S_R^2
Repetições	S_F	r-1	$S_F/(r-1)$	S_F^2/S_R^2
Resíduo	S_R	$(k-1)[r(k+1)-k]$	$S_B/18$	S_B^2/S_R

* k (4) é o número de variáveis independentes e r (2) é o número de repetições.

4.2.3.3 Otimização da fórmula selecionada

Na otimização da fórmula da suspensão de benzoilmetronidazol foram utilizadas, para constituição da matriz de ensaios, quatro variáveis independentes, em suas unidades originais e codificadas, com as seguintes denominações:

Variáveis em unidades originais

- t: concentrações de Tween 80^R (g/100mL)
- v: concentrações de Veegum HV^R (g/100mL)
- p: concentrações de propilenoglicol (g/100mL)
- as: concentrações de ácido sórbico (g/100mL)

Variáveis codificadas

- X₁: concentrações de Tween 80^R
- X₂: concentrações de Veegum HV^R
- X₃: concentrações de propilenoglicol
- X₄: concentrações de ácido sórbico

As variáveis codificadas foram relacionadas com as variáveis em unidades originais mediante uma transformação linear (18).

As variáveis respostas, testadas após 1 semana, foram:

- Y₁: pH
- Y₂: Viscosidade
- Y₃: Volume de sedimentação

Na primeira fase da experimentação programou-se uma meia fração de um projeto fatorial em dois níveis (2^4). Com este arranjo foram realizados 2^3 ensaios, correspondentes a meia fração.

A meia fração escolhida correspondeu a um projeto com resolução IV, isto é, confundiram-se efeitos principais com interações de terceira ordem e efeitos de interações de segunda ordem com as outras interações de segunda ordem, conforme está apresentado a seguir:

- O efeito da interação $X_1X_2X_3X_4$ multiplicado por meio é adicionado à grande média;
- O efeito da variável X_1 foi adicionado ao efeito de interação entre as variáveis X_2 , X_3 e X_4 ;
- O efeito da variável X_2 foi adicionado ao efeito de interação entre as variáveis X_1 , X_3 e X_4 ;
- O efeito da variável X_3 foi adicionado ao efeito de interação entre as variáveis X_1 , X_2 e X_4 ;
- O efeito da variável X_4 foi adicionado ao efeito de interação entre as variáveis X_1 , X_2 e X_3 ;
- O efeito de interação entre as variáveis X_1 e X_2 foi adicionado ao efeito de interações entre as variáveis X_3 e X_4 ;
- O efeito de interação entre as variáveis X_1 e X_3 foi adicionado ao efeito de interação entre as variáveis X_2 e X_4 ;
- O efeito de interação entre as variáveis X_1 e X_4 foi adicionado ao efeito de interação entre as variáveis X_2 e X_3 .

Com base na análise desses resultados, manteve-se X_3 e X_4 em seus níveis mínimos (concentração de propilenoglicol e concentração de ácido sórbico) na otimização.

Em seguida o planejamento foi conduzido pelo projeto fatorial de primeira ordem, 2^2 , com 4 pontos centrais. Os ensaios foram realizados conforme as condições mostradas no esquema da tabela 4.2.

Com os resultados obtidos a partir dos experimentos planejados, foi possível o ajuste e a verificação de um modelo polinomial de primeiro grau ($y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2$); avaliar a significância do coeficiente b_1b_2 (da interação X_1X_2) e o somatório do coeficiente ($b_{11} + b_{22}$) de X_1^2 e X_2^2 .

Após essa análise, foi verificada a evidência de significância destes coeficientes na região estudada, conduzindo a um projeto fatorial rotacionável (tabela 4.2 e 4.3), baseado na teoria de BOX e colaboradores (18).

Com os resultados obtidos através do projeto rotacionável do modelo viscosidade e volume de sedimentação, chegaram-se aos polinômios quadráticos que caracterizavam as superfícies de respostas.

Por meio da análise canônica (2, 18) interpretaram-se as superfícies de resposta, obtendo-se os pontos ótimos para a resposta viscosidade e volume de sedimentação. O acoplamento das duas superfícies de respostas resultou na região ótima da suspensão de benzoilmetronidazol.

Tab.4.2 Matriz de ensaios para a realização da meia fração do projeto fatorial 2⁴ com resolução IV e do projeto fatorial rotacionável com as variáveis nas unidades originais

Fórmula	Tween 80 ^R t (g/100,0ml)	Veegum HV ^R v (g/100,0ml)	Propilenoglic v (g/100,0ml)	A.sórbico as (g/100,0ml)
17*	1,00	1,00	20,0	0,10
18*	3,00	1,00	20,0	0,20
19*	1,00	2,00	20,0	0,20
20*	3,00	2,00	20,0	0,10
21*	1,00	1,00	25,0	0,20
22*	3,00	1,00	25,0	0,10
23*	1,00	2,00	25,0	0,10
24*	3,00	2,00	25,0	0,20
25*	1,00	1,00	20,0	0,10
26*	3,00	1,00	20,0	0,10
27*	1,00	2,00	20,0	0,10
28*	3,00	2,00	20,0	0,10
29*	2,00	1,50	20,0	0,10
30*	2,00	1,50	20,0	0,10
31*	2,00	1,50	20,0	0,10
32*	2,00	1,50	20,0	0,10
33*	0,59	1,50	20,0	0,10
34*	3,40	1,50	20,0	0,10
35*	2,00	0,80	20,0	0,10
36*	2,00	2,20	20,0	0,10

* A cada fórmula foi acrescentado o fármaco(6,4 g), edulcorante(0,4 g) e água destilada para completar 100 ml de amostra.

Tab.4.3 Matriz de ensaios para a realização da meia fração do projeto fatorial 2^4 com resolução IV e do projeto fatorial rotacionável com as variáveis codificadas.

FÓRMULAS	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄
17	-1	-1	-1	-1
18	+1	-1	-1	+1
19	-1	+1	-1	+1
20	+1	+1	-1	-1
21	-1	-1	+1	+1
22	+1	-1	+1	-1
23	-1	+1	+1	-1
24	+1	+1	+1	+1
25	-1	-1	-1	-1
26	+1	-1	-1	-1
27	-1	+1	-1	-1
28	+1	+1	-1	-1
29	0	0	-1	-1
30	0	0	-1	-1

Tween 80 ^R		Veegum HV ^R		Propilenoglicol		Ácido Sórbico	
-1	+1	-1	+1	-1	+1	-1	+1
1,0	3,0	1,0	2,0	20,0	25,0	0,1	0,2

X₁ conc. Tween 80^R

X₂ conc. Veegum HV^R

X₃ conc. Propilenoglicol

X₄ conc. Ácido sórbico.

CAPÍTULO 5

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Formular um medicamento consiste no estudo da compatibilização entre os insumos utilizados com vistas à obtenção de formas farmacêuticas estáveis química, fisicamente e associar ao requisito relacionado com a eficácia e segurança ao paciente. As suspensões são sistemas complexos, portanto, não permitem estabelecer regra universal no tocante ao desenvolvimento farmacotécnico.

Para escolha da fórmula da suspensão de benzoilmetronidazol a ser otimizada foi feita inicialmente uma seleção de insumos tais como, agente tensoativo, agente suspensor, poliol e conservante. A escolha da melhor associação teve como base a análise de resultados de experimentos realizados segundo um projeto fatorial fracionado, tipo quadrado greco-latino, com o qual foi possível estudar, simultaneamente, quatro fontes de variação, sendo cada uma em quatro níveis (18).

O projeto fatorial fracionado omite alguma das possíveis combinações, ou seja, restringe o número de ensaios, pois caso fosse utilizado o projeto fatorial completo seriam necessários 256 (4^4) observações. Por meio do planejamento fracionado, isto é, 1/16 do projeto fatorial completo, o número de observações foi reduzido a 16. Com a diminuição do número de ensaios as interações de ordem mais elevada, que têm menor probabilidade de ocorrer, não são analisadas. Portanto, melhora-se o experimento em termos de número de observações sem perder informações importantes. O uso mais frequente do experimento fatorial fracionado é em situações em que as informações perdidas devido a omissão de observações, relacionam-se com as interações entre os fatores, sem no entanto, comprometerem os efeitos principais.

Através da matriz de ensaio do projeto quadrado greco-latino descrito no item 4.2.3.1 associaram-se os adjuvantes da formulação. Obtiveram-se as dezesseis fórmulas relacionadas no item anterior que foram preparadas em duplicatas, segundo a técnica descrita no item 4.2.1.

5.1 Valores de pH, Viscosidade e Volume de Sedimentação das suspensões de benzoilmetronidazol do arranjo quadrado greco-latino.

As determinações de volumes de sedimentação (96, 142) e de viscosidades (77) foram efetuadas para verificar como se comportavam as partículas do fármaco quanto a sedimentação. De acordo com as equações de Stokes (122) e de Higuchi-Koseny (74), tanto maior será a estabilidade física das suspensões quanto menor for a velocidade de sedimentação das partículas suspensas.

Para se conseguir tais condições, a viscosidade deverá ser elevada, a diferença entre as densidades da fase dispersa e dispersante tender a zero e o tamanho das partículas dispersas deverá ser o menor possível.

A preocupação de se obter essas condições já existia quando da escolha dos insumos. Em relação a viscosidade, para se obter valores elevados utilizaram-se diferentes agentes suspensores. Assim JAMES e GODDARD (77) no estudando a estabilidade de suspensões de sulfato de bário, verificaram que a viscosidade foi mais importante do que a carga elétrica da fase dispersa.

Havia a necessidade também de compatibilizar a densidade aparente das partículas com a densidade da fase dispersante, segundo as equações comentadas anteriormente. Para o fármaco benzoilmetronidazol a densidade aparente medida foi de 1,8 g/mL, utilizando a técnica descrita no item 4.2.2.1.

Com a finalidade de favorecer o aumento a densidade da fase dispersante utilizou-se os poliois em concentrações elevadas. Entretanto, os pesquisadores NASH (110) e SCHUMACHER (140) comentam a dificuldade técnica encontrada ao introduzir modificações na densidade da fase dispersante, procurando iguala-la à do fármaco. Assim por exemplo com a adição do sorbitol 70% pode-se elevar a densidade até 1,3 g/ml, mas também eleva demasiadamente a viscosidade da suspensão (118).

As densidades aparentes das suspensões de benzoilmetronidazol do arranjo quadrado latino foram determinadas, mas as diferenças entre os valores encontrados entre

as medidas observadas não foram significativas, por esta razão, a densidade aparente não foi utilizada como variável resposta na comparação entre as suspensões estudadas.

Acompanhar a variação do valor de pH foi relevante para compatibilizar a estabilidade do fármaco com a dos outros componentes da fórmula, além do que valores extremos poderiam trazer danos ao organismo, como exposto na revisão da literatura.

A determinação do pH, da viscosidade e do volume de sedimentação foram realizadas após a preparação e decorrido o período de uma semana. Segundo SHUMACHER (139) uma semana é suficiente para se conhecer o comportamento do sistema.

A seguir são apresentados os resultados das variáveis repostas analisadas.

TABELA 5.1 Resultados para os valores de pH das suspensões de benzoilmetronidazol do arranjo quadrado greco-latino.

Suspensão	pH		Suspensão*	pH	
	T ₀	T ₁		T ₀	T ₁
1	8,40	7,10	1	8,38	7,74
2	8,12	7,76	2	8,14	7,70
3	5,21	6,65	3	6,07	6,38
4	6,47	5,47	4	6,65	5,85
5	6,46	6,04	5	6,43	6,25
6	4,91	4,90	6	4,88	4,89
7	5,21	5,16	7	5,30	5,04
8	6,92	6,80	8	7,04	6,69
9	7,03	7,38	9	9,41	8,39
10	6,04	6,00	10	5,38	4,98
11	6,78	6,88	11	7,11	7,10
12	5,21	5,36	12	5,25	5,36
13	4,59	4,60	13	4,63	4,64
14	6,51	6,40	14	6,66	6,81
15	6,36	6,12	15	6,38	6,22
16	6,72	6,67	16	6,71	6,65

T₀ pH após a preparaçãoT₁ pH após uma semana de preparação

* ensaios repetidos

TABELA 5.2 Resultados para os valores de viscosidade das suspensões de benzoilmetronidazol do arranjo quadrado greco-latino.

suspensão	viscosidade		suspensão*	viscosidade	
	T _A	T ₁		T _A	T ₁
1	10,535	6,483	1	10,535	6,583
2	13,169	6,321	2	13,169	6,848
3	27,391	13,169	3	27,337	14,749
4	30,024	12,642	4	26,856	13,695
5	74,271	9,515	5	44,773	51,621
6	42,140	35,819	6	43,194	37,926
7	57,942	59,522	7	76,906	50,568
8	50,560	84,280	8	55,308	93,762
9	18,963	30,551	9	23,177	16,856
10	5,267	9,903	10	16,856	5,267
11	10,272	20,543	11	29,498	29,234
12	11,325	6,584	12	11,325	6,584
13	10,272	20,543	13	13,696	17,383
14	10,008	10,080	14	14,222	10,080
15	15,806	9,481	15	13,696	13,696
16	12,642	17,909	16	18,963	30,551

T₀ viscosidade após a preparaçãoT₁ viscosidade após uma semana de preparação

* ensaios repetidos

TABELA 5.3 Resultados para os valores de volume de sedimentação suspensões de benzoilmetronidazol do arranjo quadrado greco-latino.

suspensão	volume		suspensão*	volume	
	T ₀	T ₁		T ₀	T ₁
1	53,0	52,0	1	60,0	59,0
2	80,0	80,0	2	80,0	80,0
3	63,0	57,0	3	65,0	65,0
4	72,0	70,0	4	65,8	65,1
5	39,0	33,0	5	30,0	25,0
6	19,0	19,0	6	18,0	18,0
7	53,0	45,0	7	50,0	35,0
8	56,0	42,0	8	65,0	60,0
9	44,0	37,0	9	9,0	9,0
10	33,0	30,0	10	9,0	9,0
11	9,0	9,0	11	20,0	20,0
12	9,0	9,0	12	10,0	9,0
13	45,0	45,0	13	55,0	50,0
14	28,0	28,0	14	35,0	35,0
15	25,0	25,0	15	30,0	20,0
16	45,0	46,0	16	49,0	49,0

T₀ vol. de sedimentação após a preparaçãoT₁ vol. de sedimentação após uma semana

* ensaios repetidos

5.1.1. Análise de variância para os dados experimentais obtidos com o arranjo greco-latino.

A análise de experimentos com quatro variáveis requer desenhos experimentais que permitam comparações simultâneas. Para tanto, os métodos convencionais de análise de dados não poderiam ser utilizados, pois nestes casos, só se consegue variar um fator por vez sendo também necessários vários ensaios que no entanto poderiam resultar em informações incompletas.

Um dos métodos escolhido para propiciar a análise mais eficiente foi a análise de variância (16, 18). Com este método podem-se variar alguns fatores simultaneamente, obtendo-se qualitativamente a influência de cada fator no fenômeno.

A seguir apresentam-se as tabelas de análise de variância para cada um dos modelos.

De posse dos resultados da análise de variância para cada um dos modelos, procedeu-se a comparação das razões de variâncias, "F", calculadas com o "F", tabelado (18).

Tabela 5.4 Análise de variância para os valores de pH das suspensões de benzoilmetronidazol, projeto fatorial fracionado, quadrado greco-latino após a preparação

fonte de variação	soma de quadrados	graus de liberdade	variâncias estimadas	razão entre variâncias
média	1318,5396	1		
suspensores	7,8542	3	2,61806	8,612
tensoativos	3,1297	3	1,0432	3,4319
poliois	8,7725	3	2,9416	9,6195
conservantes	19,5327	3	6,5109	21,4186
repetições	0,3896	1	0,3896	1,2816
resíduo	5,4717	18	0,3040	
Total	1363,69	32		

Tabela 5.5 Análise de variância para os valores de pH das suspensões de benzoilmetronidazol, projeto fatorial fracionado, quadrado greco-latino após uma semana de preparação

fonte de variação	soma de quadrados	graus de liberdade	variâncias estimadas	razão entre variâncias
média	1248,3755	1		
suspensores	5,7686	3	1,922	14,5386
tensoativos	0,8257	3	0,2752	2,0819
poliois	12,6277	3	4,2092	31,8400
conservantes	9,757	3	3,2523	24,6016
repetições	0,0798	1	0,0709	0,5976
resíduo	2,3792	18	0,1322	
Total	1276,8135	32		

Tabela 5.6 Análise de variância para a viscosidade das suspensões de benzoilmetronidazol, projeto fatorial fracionado, quadrado greco-latino após a preparação.

fonte de variação	soma de quadrados	graus de liberdade	variâncias estimadas	razão entre variâncias
média	22055,534	1		
suspensores	9369,204	3	3123,0681	60,0936
tensoativos	644,0106	3	214,6702	4,052
poliois	281,6931	3	93,8977	1,772
conservantes	381,1982	3	127,0661	2,398
repetições	47,4216	1	47,4216	0,895
resíduo	953,7197	18	52,9844	
Total	33732,7812	32		

Tabela 5.7 Análise de variância para a viscosidade das suspensões de benzoilmetronidazol, projeto fatorial fracionado, quadrado greco-latino após uma semana de preparação.

fonte de variação	soma de quadrados	graus de liberdade	variâncias estimadas	razão entre variâncias
média	19880,1650	1		
suspensores	11513,4019	3	3837,8006	49,329
tensoativos	1301,1828	3	433,7276	5,575
poliois	959,0099	3	319,6700	4,109
conservantes	422,9895	3	140,9965	1,812
repetições	5,1597	1	5,1597	0,066
resíduo	1400,3908	18	77,7995	
Total	35482,2996	32		

Tabela 5.8 Análise de variância para o volume de sedimentação das suspensões de benzoilmetronidazol, projeto fatorial fracionado, quadrado greco-latino após a preparação.

fonte de variação	soma de quadrados	graus de liberdade	variâncias estimadas	razão entre variâncias
média	54712,666	1		
suspensores	9828,673	3	3267,2243	24,4918
tensoativos	340,908	3	113,6360	0,8495
poliois	973,209	3	324,4030	2,4251
conservantes	1190,873	3	396,9577	2,9675
repetições	16,2735	1	16,2735	0,1217
resíduo	2407,829	18	133,7683	
Total	69470,423	32		

Tabela 5.9 Análise de variância para o volume de sedimentação das suspensões de benzoilmetronidazol, projeto fatorial fracionado, quadrado greco-latino após uma semana de preparação.

fonte de variação	soma de quadrados	graus de liberdade	variâncias estimadas	razão entre variâncias
média	47677,176	1		
suspensores	10064,213	3	2436,7083	29,829
tensoativos	360,703	3	189,3750	1,0680
poliois	542,908	3	0,7917	1,6076
conservantes	908,028	3	849,3750	2,6887
repetições	11,068	1	496,1250	0,0983
resíduo	2206,335	18	167,2778	
Total	61770,431	32		

A análise de variância utiliza o modelo aditivo das somas quadradas. O procedimento consiste em comparar as razões de variância calculadas (o número, "F", de Fisher) com o valores de "F" tabelado. A partir desta comparação, para um nível de significância estabelecido, pode-se verificar se as duas variâncias pertencem a uma mesma população. Para os "F" calculados maiores que os "F" tabelados a influência daquele fator foi significativa, isto é, as médias podem não pertencer àquela população, indicando que o fator exerceu alguma influência sobre o fenômeno.

Os F com 3 e 18 graus de liberdade, F(3,18) calculados para os agentes suspensores, tensoativos, poliois e conservantes foram comparados ao F(3,18) tabelado, cujo valor é 3,16, com 5% de significância. O F(1,18) calculado para a repetição foi comparado ao F(1,18) tabelado de valor de 4,41 com 95% de confiança.

As razões entre as variâncias de cada fonte de variação (agente suspensor, tensoativo, polióis e consevantes) e o resíduo, F(3,18), bem como, entre a repetição e o resíduo, F(1,18) estão apresentadas na tabela 5.10 a seguir.

Tabela 5.10 Razão entre as variâncias de cada fonte de variação e a do resíduo.

MODELO	F(3,18) _{calc:T}			F(1,18) _{calc.}	
	tensoativo	suspensor	poliol	conservante	resíduo
Imediatamente após a preparação					
pH	4,243	10,666	11,915	26,396	1,558
visc*	4,052	58,939	1,772	2,398	0,895
vol**	0,8495	24,4918	2,4251	2,9675	0,121
Decorrido o período de uma semana					
pH	2,103	14,459	31,710	24,699	0,626
visc*	5,575	49,329	4,109	1,812	0,066
vol**	1,068	29,829	1,607	2,689	0,098

visc* viscosidade

vol** volume de sedimentação

Para o modelo pH, após a preparação das suspensões de benzoilmetronidazol, as razões de variância dos agentes suspensores, tensoativos, poliois e conservantes apresentaram valores superiores à 3,16, razão de variância tabelada, F(3,18). Portanto essas variáveis apresentaram efeitos significativos sobre a variação do valor de pH das suspensões.

Após uma semana de preparo, os efeitos significativos sobre o pH das suspensões foram devidos aos agentes suspensores, poliois e conservantes.

Esses resultados estão de acordo com os da literatura, pois já se conhecia o comportamento de alguma dessas variáveis no pH das suspensões, como anteriormente comentado no capítulo 3. CARAMELLA e colaboradores (25), com base a mobilidade eletroforética do fármaco disperso (Zeta Potencial), verificaram que em suspensões contendo quimioterápicos e antibióticos, havia relação entre o pH e a forma de sedimentação das partículas. Concluíram que a estabilidade física da suspensão era dependente do pH e que para cada fármaco existe uma faixa apropriada.

O pH é escolhido também, em função das propriedades reológicas do agente suspensor. KELLAWAY e NAJIB (87) recomendam que o valor se situe acima de 5,5, para que o meio suspensor adquira conformação adequada e promova a floculação da substância dispersa.

Os conservantes podem ter a sua eficiência comprometida em função do pH pois dependendo do seu estado iônico eles podem apresentar ou não atividade

antimicrobiana, podem perder a estabilidade, e ainda ter alterado seu coeficiente de distribuição entre as fases dispersa e dispergente (116)

Os efeitos significativos sobre a viscosidade, após a preparação, foram do agente suspensor com $F(3,18)$ calculado de 58,939 e dos agentes tensoativos com $F(3,18)$ calculado de 4,052. Para a viscosidade após uma semana os efeitos significativos foram dos agentes suspensores com $F(3,18)$ calculado de 49,329; dos tensoativos com $F(3,18)$ calculado de 5,575 e dos poliois com $F(3,18)$ calculado de 4,109. A principal influência na viscosidade foi do agente suspensor, o que confirma a função deste adjuvante em favorecer o aumento da viscosidade.

A outra função do agente suspensor é propiciar um elevado volume de sedimentação e favorecer um sistema floculado, isto é, que a força de atração entre as partículas dispersas seja maior que as de repulsão (5, 83, 124). Essa função foi confirmada pois o agente suspensor apresentou efeitos significativos no modelo volume de sedimentação, após a preparação e decorrido o período de uma semana, sendo o $F(3,18)$ calculado de 24,4918 e 29,829, respectivamente.

5.2 Seleção das melhores fórmulas a partir da comparação de médias

A comparação das médias foi efetuada usando uma distribuição de referência, no caso esta foi a distribuição "t" de Student dimensional (t scaled), levando em consideração os dados estatísticos de cada modelo.

Para construção de cada curva de distribuição de referência, seguiu-se a seguinte metodologia:

Cada distribuição foi obtida tendo como ordenada os "valores das ordenadas de t" que contam na tabela B2 de BOX, HUNTER e HUNTER (18) com os graus de liberdade do resíduo.

As abscissas foram obtidas multiplicando-se o fator de escala $(sR^2/n)^*$, pelo valor do t correspondente à ordenada, somando-se ou subtraindo-se da grande média, obtendo-se assim uma distribuição simétrica.

* sR^2 é a variância do resíduo e n é o número de observações.

Nas figuras a seguir estão representadas as curvas das distribuições de referência, para cada modelo, e assinaladas as médias de cada variável dependente (resposta). As médias estão mostradas, também, nas tabelas de 5.11. a 5.16.

5.2.1. Estudo comparativo das médias das variáveis independentes na resposta pH

Tabela 5.11 Médias de valores de pH das suspensões de benzoilmetronidazol do projeto fatorial fracionado, quadrado greco-latino, após a preparação.

AGENTE TENSOATIVO	MÉDIA	AGENTE SUSPENSOR	MÉDIA
Unitol L 40 ^R	6,92	Veegum HV ^R	7,18
Nopcowet 75 ^R	6,33	Ultracell 2-600HP ^R	5,90
Tween 80 ^R	6,05	Acrisint 400 ^R	6,52
Tween 60 ^R	6,38	Viscosol RV ^R	6,07
POLIOIS	MÉDIA	CONSERVANTES	MÉDIA
Sorbitol 70%	6,74	Nipaset ^R	6,87
Glicerina	6,54	Bronopol ^R	7,08
Propilenoglicol	6,86	Ácido sórbico	5,09
Polietilenog 400	5,53	Nipagin ^R	6,63

Tabela 5.12 Médias de valores de pH das suspensões benzoilmetronidazol do projeto fatorial fracionado, quadrado greco-latino após uma semana de preparação.

AGENTE TENSOATIVO	MÉDIA	AGENTE SUSPENSOR	MÉDIA
Unitol L 40 ^R	6,52	Veegum HV ^R	6,84
Nopcowet 75 ^R	6,16	Ultracell 2-600HP ^R	5,72
Tween 80 ^R	6,19	Acrisint 400 ^R	6,43
Tween 60 ^R	6,11	Viscosol RV ^R	5,99
POLIOIS	MÉDIA	CONSERVANTES	MÉDIA
Sorbitol 70%	6,49	Nipaset ^R	6,45
Glicerina	6,36	Bronopol ^R	6,80
Propilenoglicol	6,92	Ácido sórbico	5,34
Polietilenog,400	5,22	Nipagin ^R	6,33

Tabela 5.13 Médias de viscosidades das suspensões de benzoilmetronidazol do projeto fatorial fracionado, quadrado greco-latino após a preparação.

AGENTE TENSOATIVO	MÉDIA	AGENTE SUSPENSOR	MÉDIA
Unitol L 40 ^R	25,78	Veegum HV ^R	19,88
Nopcowet 75 ^R	19,75	Ultracell 2-600HP ^R	55,64
Tween 80 ^R	32,35	Acrisint 400 ^R	15,83
Tween 60 ^R	27,13	Viscosol RV ^R	13,66
POLIOIS	MÉDIA	CONSERVANTES	MÉDIA
Sorbitol 70%	22,27	Nipaset ^R	22,32
Glicerina	24,69	Bronopol ^R	29,37
Propilenoglicol	28,37	Ácido sórbico	23,33
Polietilenog.400	29,73	Nipagin ^R	29,99

Unidade das médias : cP

Tabela 5.14 Médias de viscosidade das suspensões de benzoilmetronidazol do projeto fatorial fracionado, quadrado greco-latino após 1 semana de preparação.

AGENTE TENSOATIVO	MÉDIA	AGENTE SUSPENSOR	MÉDIA
Unitol L 40 ^R	24,95	Veegum HV ^R	10,06
Nopcowet 75 ^R	15,26	Ultracell 2-600HP ^R	57,88
Tween 80 ^R	26,37	Acrisint 400 ^R	15,69
Tween 60 ^R	33,25	Viscosol RV ^R	16,20
POLIOIS	MÉDIA	CONSERVANTES	MÉDIA
Sorbitol 70%	23,15	Nipaset ^R	28,69
Glicerina	18,83	Bronopol ^R	27,39
Propilenoglicol	34,17	Ácido sórbico	19,10
Polietilenog.400	23,68	Nipagin ^R	24,66

Unidade das médias : cP

Tabela 5.15 Médias dos volumes de sedimentação, das suspensões benzoilmetronidazol doprojeto fatorial fracionado, quadrado greco-latino após a preparação.

AGENTE TENSOATIVO	MÉDIA	AGENTE SUSPENSOR	MÉDIA
Unitol L 40 ^R	41,88	Veegum HV ^R	67,27
Nopcowet 75 ^R	37,75	Ultracell 2-600HP ^R	41,25
Tween 80 ^R	39,37	Acrisint 400 ^R	17,875
Tween 60 ^R	46,40	Viscosol RV ^R	39,0
POLIOIS	MÉDIA	CONSERVANTES	MÉDIA
Sorbitol 70%	34,125	Nipaset ^R	41,37
Glicerina	37,88	Bronopol ^R	51,25
Propilenoglicol	45,62	Ácido sórbico	35,50
Polietilenog.400	47,78	Nipagin ^R	37,27

Tabela 5.16 Médias dos volumes de sedimentação, das suspensõesbenzoi metronidazol do projeto fatorial fracionado, quadrado greco-latino após uma semana de preparação.

AGENTE TENSOATIVO	MÉDIA	AGENTE SUSPENSOR	MÉDIA
Unitol L40 ^R	38,75	I-Veegum HV ^R	66,02
Nopcowet 75 ^R	37,37	II-Ultracell 2-600HP ^R	34,62
Tween 80 ^R	34,5	III-Acrisint 400 ^R	16,5
Tween 60 ^R	43,75	IV-Viscosol RV ^R	37,25
POLIOIS	MÉDIA	CONSERVANTES	MÉDIA
Sorbitol 70%	34,00	Nipaset ^R	37,12
Glicerina	35,12	Bronopol ^R	47,62
Propilenoglicol	41,62	Ácido sórbico	34,00
Polietilenog. 40	43,5	Nipagin ^R	35,62

Estendendo a interpretação dos resultados, pode-se por meio da comparação das médias, utilizando-se no caso a distribuição de t como referência, analisar a influência individual de cada componente para as famílias de tensoativo, agente suspensor, poliol e conservante, nas variáveis resposta (pH, viscosidade e volume de sedimentação).

Para o pH após a preparação (figura 1), segundo os dados anteriormente discutidos na análise de variância, verificou-se que os agentes tensoativos, agentes suspensores, poliois e conservantes exerciam influência nesta resposta. Na comparação das

médias observou-se que para os tensoativos (figura 1.a), o Tween 80^R foi o responsável por essa influência pois não pertencia a população quando o pH encontrava-se próximo a 6.42.

Em relação aos agentes suspensores (figura 1.b), o Ultracell 2-600HP^R favoreceu o abaixamento do pH e o Veegum HV^R a elevação próximo a neutralidade, sendo que outras variáveis independentes pertencem à população e não exerceram influências no modelo pH.

Dos polióis, segundo a figura 1.c, o sorbitol 70% e o propilenoglicol favoreceram de maneira não incisiva no aumento do pH e o polietilenoglicol 400 na diminuição desta variável dependente.

Para os conservantes, o ácido sórbico influenciou na diminuição do pH, enquanto, o Nipaset^R e o Bronopol^R não provocaram uma variação acentuada em relação ao pH médio, segundo a figura 1.d.

A análise de variância, do pH após uma semana de preparação, indicou influências significativas nos agentes suspensores, polióis e conservantes. Este fato foi confirmado na análise de comparação de médias, figura 2.a, onde todos os tensoativos pertenceram população de referência, portanto não influenciando no pH, decorrido uma semana de preparação.

Para os agentes suspensores, Figura 2.b o comportamento da distribuição das médias foi semelhante ao do pH inicial, fig. 1b.

Em relação aos polióis, figura 2.c, e aos conservantes, figura 2.d, as influencias foram mais acentuadas do que no pH inicial, figuras 1c e 1d.

Na análise de variância, para a viscosidade após a preparação, os efeitos não significativos foram dos polióis e conservantes. Este fato está de acordo com a análise das médias, figura 3.c e figura 3.d, em que todas as médias pertencem à população.

Quanto aos tensoativos, os que apresentaram efeitos significativos na viscosidade foram o Nopcowet 75^R e o Tween 80^R, porém de forma não acentuada, figura 3.a.

Na viscosidade inicial a maior influência foi causada pelos agentes suspensores, cujas médias não fazem parte da população de referência, figura 3.b. Observa-se, também pela figura, que o Viscosol RV^R, o Acrisint 400^R e o Veegum HV^R contribuíram semelhantemente em relação a média. Já o Ultracell 2-600HP^R mostrou um comportamento oposto ao dos anteriores em relação a média.

a) Tensoativos

b) Suspensores

c) Polióis

d) Conservantes

Figura 1 Comparação das médias dos valores de pH, após a preparação

a) Tensioativos

b) Suspensores

c) Polióis

d) Conservantes

Figura 2 Comparação das médias dos valores de pH, após uma semana de preparação

a) Tensoativos

b) Suspensores

c) Poliois

d) Conservantes

Figura 3 Comparação das médias dos valores de viscosidade, após a preparação

Para a viscosidade após uma semana, a análise de variância demonstrou que houve influências significativas não só dos agentes tensoativos e suspensores como também dos polióis. Em relação aos tensoativos, segundo a comparação das médias, houve uma tendência do Tween 80^R de aumentar a viscosidade e o Tween 60^R de diminuir, figura 5.a.

Ao se analisar a distribuição de médias dos tensoativos após a preparação (figura 3.b) e decorrido o período de uma semana (figura 5.b), verificou-se que o comportamento foi semelhante.

Em relação aos polióis, a glicerina e o propilenoglicol foram as variáveis independentes que contribuíram para a significância do efeito, na viscosidade após uma semana de preparação. A glicerina apresentou tendência de diminuição e o propilenoglicol de aumento, figura 5.c.

O comportamento dos agentes suspensores, tensoativos, polióis e conservantes no volume de sedimentação, após a preparação e decorrido o período de uma semana, está apresentado nas figuras 5 e 6.

Confirmando a análise de variância verificou-se pela comparação das médias que os agentes tensoativos (figura 5.a e figura 6.a), polióis (figura 5.c e figura 6.c) e conservantes (figura 5.d e figura 6.d) apresentaram seus valores dentro da população das médias, não exercendo influências significativas no modelo volume de sedimentação, quando se verificou o efeito principal.

Os agentes suspensores apresentaram efeitos significativos, figuras 5.b e 6.b. O Veegum HV^R foi o mais adequado pois os valores de volume de sedimentação foram próximos de 100, compatível o de uma suspensão farmacêutica. Entretanto, o comportamento do Acrisint^R foi o oposto ao do Veegum HV^R.

Fundamentados nos parâmetros encontrados e anteriormente discutidos, escolheu-se a fórmula que apresentasse: pH próximo a neutralidade, compatível com o organismo e com a estabilidade do fármaco; uma viscosidade que permitisse a saída da suspensão farmacêutica do material de acondicionamento; um maior volume de sedimentação, sem a ocorrência de um sedimento compactado, além de características organolépticas adequadas, pois eram preparações para uso oral

Além dessas especificações considerou-se, também o tipo de sedimento formado pelas partículas suspensas e a facilidade de ressuspensão destas, tabela 5.14.

a) Tensoativos

b) Suspensores

c) Poliois

d) Conservantes

Figura 4 Comparação das médias dos valores de viscosidades, após uma semana de preparação

a) Tensoativos

b) Suspensores

c) Poliois

d) Conservantes

Figura 5 Comparação das médias dos valores de volume de sedimentação, após a preparação

Figura 6 Comparação das médias dos valores de volume de sedimentação, após uma semana de preparação

Tabela 5.17 Características da suspensão de benzoilmetronidazol do arranjo greco-latino após uma semana de preparação.

Suspensão	Ressuspensão	Sedimento
1	Fa	F
2	Fa	F
3	Fa	F
4	Fa	F
5	Di	C
6	Di	C
7	Re	F
8	Di	C
9	Di	C
10	Fa	F
11	Di	C
12	Re	F
13	Fa	F
14	Fa	F
15	Di	C
16	Di	C

Di Dificil
Re Regular
Fa Fácil

C Compactado
F Floculado

As fórmulas que apresentaram melhor associação de componentes, portanto aceitáveis dentro das características desejadas para uma suspensão farmacêutica, foram as continham Veegum HV^R, como agente suspensor. Dentre elas, as suspensões de número 3 e 4 demonstraram características organolépticas adequadas, pois alguns dos insumos utilizados apresentavam odor e sabor desagradáveis, embora se tenha utilizado um edulcorante em todas as formulações.

Com a finalidade de melhorar o desempenho da suspensão de benzoilmetronidazol dentro das especificações recorreu-se a métodos estatísticos de otimização.

A fórmula 3 foi a escolhida para otimização, porque o ácido sórbico tem menor interação com os tensoativos não iônicos (42) portanto, menores riscos de diminuir a atividade do conservante. Já na fórmula de número 4 contendo Nipagin^R (metilparabeno)

e Tween 60^R (polissorbato 60), haveria maior probabilidade de ocorrer a interação entre conservantes fenólicos e os tensoativos não iônicos (7, 8, 49, 86, 113, 120, 142, 145). Segundo KALISH (81) os parabenos formam complexos com os tensoativos não iônicos, e isto pode conduzir à diminuição ou mesmo a eliminação da concentração livre do conservante, resultando em uma formulação com o seu sistema conservante comprometido.

5.3 Otimização da fórmula da suspensão de benzoilmetronidazol

Segundo BENKADDOUR e colaboradores (12) a essência dos problemas de uma formulação farmacêutica é a compreensão da ação de um certo número de variáveis, para se conseguir as melhores respostas, o que significa otimizar a fórmula.

As variáveis estudadas nesta etapa do trabalho foram:

- Variáveis independentes - dois níveis de concentração do Veegum HV^R; do Tween 80^R; do polietilenoglicol e do ácido sórbico;
- Variáveis dependentes ou resposta: pH, viscosidade e volume de sedimentação.

Os ensaios foram realizados conforme o delineamento de uma meia fração de um projeto fatorial completo 2⁴, (18). Neste projeto a matriz de ensaios é feita com as variáveis independentes em suas unidades originais. Após a realização desses ensaios é feita a análise dos resultados com as variáveis independente codificadas.

Entre as variáveis em unidades originais e as codificadas existe as transformações lineares mostradas a seguir:

$$X_1 = (t - 2)/1 \quad (\text{equação 5.1})$$

$$X_2 = (v - 1,5)/0,5 \quad (\text{equação 5.2})$$

$$X_3 = (p - 22,5)/2,5 \quad (\text{equação 5.3})$$

$$X_4 = (as - 0,5)/0,05 \quad (\text{equação 5.4})$$

onde:

X₁, Tween 80^R em unidades codificadas;

t, Tween 80^R em unidades originais;

X₂, Veegun HV^R em unidades codificadas;

v, Veegun HV^R em unidades originais;

X₃, propilenoglicol em unidades codificadas;

p, propilenoglicol em unidades originais;

X₄, ácido sórbico em unidades codificadas;

as, ácido sórbico em unidades originais;

A matriz de ensaios para as variáveis em unidades originais e variáveis codificadas com resultados obtidos para as variáveis resposta, da meia fração do projeto fatorial em dois níveis, está apresentada a seguir:

Tabela 5.18 Matriz de ensaios para a realização da meia fração do projeto fatorial 24 com resolução IV, com as variáveis nas unidades originais, variáveis codificadas e variáveis resposta.

variáveis resposta.							
ensaio número	Tween 80 ^R (t) (g/100,0ml)	Veegum HV ^R (v) (g/100,0ml)		Propilenoglic (p) (g/100,0ml)		A.sórbico (as) (g/100,0ml)	
a. variáveis independentes em unidades originais							
17*	1,0	1,0		20,0		0,10	
18*	3,0	1,0		20,0		0,20	
19*	1,0	2,0		20,0		0,20	
20*	3,0	2,0		20,0		0,10	
21*	1,0	1,0		25,0		0,20	
22*	3,0	1,0		25,0		0,10	
23*	1,0	2,0		25,0		0,10	
24*	3,0	2,0		25,0		0,20	
FÓRM.	X1	X2	X3	X4	pH	visc.	vol. sed.
17	-1	-1	-1	-1	5,35	11,588	58,0
18	+ 1	-1	-1	+ 1	4,84	7,374	46,0
19	-1	+ 1	-1	+ 1	5,30	14,749	99,0
20	+ 1	+ 1	-1	-1	6,51	18,963	100,0
21	-1	-1	+ 1	+ 1	4,89	14,749	56,0
22	+ 1	-1	+ 1	-1	5,58	17,909	54,0
23	-1	+ 1	+ 1	-1	6,24	21,070	100,0
24	+ 1	+ 1	+ 1	+ 1	5,48	28,444	100,0
Tween 80 ^R		Veegum HV ^R		Propilenoglicol		Ácido sórbico	
-1	+ 1	-1	+ 1	-1	+ 1	-1	+ 1
1,0	3,0	1,0	2,0	20,0	25,0	0,1	0,2

X₁ Tween 80^R

X₂ Veegum HV^R

X₃ Propilenoglicol

X₄ Ácido sórbico

* A cada fórmula foi acrescentado o fármaco(6,4 g), edulcorante(0,4 g) e água destilada para completar 100 ml de amostra.

As suspensões de benzoilmetronidazol, nessa etapa e nas seguintes, foram preparadas de forma semelhante às aquelas do arranjo quadrado greco-latino descritas no capítulo 4. As fórmulas foram as de número 17 a 24 conforme a Tabela 5.18., anteriormente descrita. Analisaram-se o pH, a viscosidade e o volume de sedimentação após uma semana de preparo em condições idênticas às técnicas usadas anteriormente. Efetuaram-se as análises após o preparo porém os resultados não mostraram diferenças significativas entre essas suspensões.

Nesta primeira etapa da otimização mediram-se os efeitos principais das variáveis independentes confundidos com os efeitos das interações de terceira ordem; os efeitos das interações de segunda confundidos com outras interações também de segunda ordem, conforme a metodologia explicada no item número 4.2.3.3. do capítulo 4.

O resultado da análise dos efeitos das variáveis é mostradas na tabela 5.19.

Na análise dos efeitos estimados para as respostas, o efeito com o maior valor, em número absoluto, é o que apresenta maior significância. O sinal positivo significa que aumentando-se a variável independente este irá aumentar a resposta; para o sinal negativo o comportamento é o oposto ao descrito. No projeto de meia fração não contém ensaios suficientes para estimar o erro experimental da medida dos efeitos. Nesses casos, a estatística (18) recomenda utilizar os efeitos de menor valor absoluto como aproximação do erro experimental.

A coluna 2 da tabela 5.20., mostra que para o pH os efeitos significativos foram causados principalmente pelo ácido sórbico (X_4), somado ao efeito menor da interação entre o Tween 80^R (X_1), o Veegum HV^R (X_2) e o propilenoglicol (X_3); pelo Veegum HV^R (X_2), somado ao efeito da interação entre o Tween 80^R (X_1), o propilenoglicol (X_3) e o ácido sórbico (X_4). Apresentaram, também, efeitos significativos, com menor intensidade, as variáveis X_1 somada a interação $X_2.X_3.X_4$; X_4 somada a interação $X_1.X_2.X_3$ e as interações $X_1.X_3$ e $X_2.X_4$ confundidas. Foram insignificantes os efeitos causados pela variável X_3 somado ao efeito da interação $X_1.X_2.X_4$; o efeito as interações $X_1.X_2$ e $X_3.X_4$ e as interações $X_1.X_4$ e $X_2.X_3$, confundidas.

Tabela 5.19 Efeito do tensoativo, suspensor, poliol e conservante no pH, na viscosidade e no volume de sedimentação para a meia fração do projeto fatorial 2^4 com resolução IV após uma semana de preparo

Efeitos confundidos para as var.indep.	efeito estimado para as respostas		
	pH	visc	vol. sed.
Média + $1/2(X_1.X_2.X_3.X_4)$	5,524	16,856	76,663
$X_1 + X_2.X_3.X_4$	0,158	2,634	-3,250
$X_2 + X_1.X_3.X_4$	0,718	7,902	46,250
$X_3 + X_1.X_2.X_4$	-0,048	7,375	1,750
$X_4 + X_1.X_2.X_3$	0,793	-1,053	-2,750
$X_1.X_2 + X_3.X_4$	-0,068	3,161	3,750
$X_1.X_3 + X_2.X_4$	-1,193	0,527	2,250
$X_1.X_4 + X_2.X_3$	0,093	1,125	-1,250

X_1 Tween 80^R

X_2 Veegum HV^R

X_3 Propilenoglicol

X_4 Ácido sórbico

A coluna 3 da tabela 5.20, mostra que para a viscosidade os efeitos significativos foram causados principalmente pelo Veegum HV^R (X_2), somado ao efeito menor da interação entre o Tween 80^R (X_1), o propilenoglicol (X_3) e o ácido sórbico (X_4); pelo propilenoglicol (X_3), somado ao efeito da interação entre o Tween 80^R (X_1), o Veegum HV^R (X_2) e o ácido sórbico (X_4). Apresentaram, também, efeitos significativos, com menor intensidade, as variáveis X_1 somada a interação $X_2.X_3.X_4$; as interações $X_1.X_2$ e $X_3.X_4$, as interações $X_1.X_3$ e $X_2.X_4$, confundidas. Foram insignificantes os efeitos causados pela variável X_4 somado ao efeito da interação $X_1.X_2.X_3$; o efeito as interações $X_1.X_4$ e $X_2.X_3$, confundidas.

Apresentaram efeitos significativos na viscosidade em menor grau, a interação entre X_1 e X_2 somada a interação entre X_3 e X_4 ; a variável independente X_1 somada a interação X_2 , X_3 e X_4 ; e a interação entre X_1 e X_3 somada a interação X_2 e X_4 . Considerou-se não significativo o efeito X_4 somado a interação entre X_1, X_2 e X_3 ; e a interação entre X_1 e X_4 somado a X_2 e X_3 .

Foi confirmada a função do agente suspensor em aumentar a viscosidade, pois o efeito principal do Veegum HV^R (X_2) indicou maior significância. O propilenoglicol (X_3) indicou efeitos significativos elevados também, contudo a significância deve-se

provavelmente a característica da própria substância de apresentar elevada viscosidade e pela grande quantidade utilizada nas fórmulas (20 e 25 % p/v).

No volume de sedimentação foi característico o efeito principal do agente suspensor Veegum HV^R (X₂), somado aos efeitos de interação entre o Tween 80^R (X₁), propilenoglicol (X₃) e ácido sórbico (X₄) pois o valor encontrado apresentou grandeza significativa destacando-se sobre os demais. Outros efeitos comparados com esse apresentaram efeitos não significativos, com ordem de grandeza que podem seguramente ser atribuída ao erro experimental.

Em relação as médias encontradas na linha 1 da tabela 5.20. observa-se que a viscosidade apresentou-se adequada contudo o pH e o volume de sedimentação necessitavam ainda de um ajuste. Para isso, fixou-se o valor da concentração do ácido sórbico e propilenoglicol.

Em relação ao propilenoglicol manteve-se a concentração em nível mínimo (Tabela 5.20.), pois apresentou efeito significativo positivo na viscosidade. O aumento desse teria como consequência uma suspensão de elevada viscosidade dificultando a homogeneização e a saída da preparação farmacêutica do material de acondicionamento.

Para o volume de sedimentação, esse poliol apresentou efeito pouco significativo, alterações na sua concentração não influenciariam de maneira incisiva no resultado destas análises. JONES e colaboradores (78) estudaram o comportamento do glicerol em suspensões de sulfaguanidina, observaram que havia leve aumento do volume de sedimentação quando se aumentava a concentração do poliol. No entanto, as publicações de ZATZ e LUE (157, 158) verificaram acentuada influência dos políeis no volume de sedimentação, pois estes provocam a desidratação dos polissorbatos, fato este que ocasiona a floculação das partículas suspensas, obtendo-se, então, um maior volume de sedimentação.

A fim de manter o pH próximo da neutralidade, fixou-se o valor da concentração do ácido sórbico também em nível mínimo (X₄ = -1). Esta opção favorece a todas as respostas ajustadas, poderão ser confirmadas pela, 5.5, 5.6 e 5.7, construídas a partir dos coeficientes apresentados na tabela 5.20.

Segundo BARR (9) a viscosidade máxima do Veegun HV^R é produzida quando o pH da dispersão encontra-se na faixa de 9 a 11, mas também pode agir satisfatoriamente em pH próximo da neutralidade. O ácido sórbico apresenta-se mais efetivo em pH ácido (36, 97, 116). Esse é primariamente mais ativo na forma não dissociada, portanto tende a perder a atividade quando ocorre o aumento do pH. Entretanto, este conservante não agiu

de forma isolada pois utilizou-se o propilenoglicol que também apresenta atividade antimicrobiana, além disto, utilizou-se este poliol em elevadas concentrações, permitindo então obter um sistema conservante eficaz.

Com base nos efeitos encontrados, e anteriormente discutidos, conduziu-se o experimento mantendo-se a concentração de propilenoglicol em 20% (p/v) e a de ácido sórbico em 0,1% (p/v). Desta forma, prosseguiu-se o estudo explorando as variáveis independentes, Tween 80^R e Vegum HV^R.

Tabela 5.20 Coeficientes das variáveis independentes mais as interações confundidas, para a meia fração do projeto fatorial 2⁴ com resolução IV após uma semana de preparo

variáveis independentes mais int. confundidas	coeficientes estimados		
	pH	visc	vol. sed.
Média + 1/2(X ₁ .X ₂ .X ₃ .X ₄)	5,524	16,856	76,663
X ₁ + X ₂ .X ₃ .X ₄	0,790	1,317	-1,625
X ₂ + X ₁ .X ₃ .X ₄	0,359	3,951	23,125
X ₃ + X ₁ .X ₂ .X ₄	0,024	3,688	0,875
X ₄ + X ₁ .X ₂ .X ₃	-0,397	-0,523	-1,375
X ₁ .X ₂ + X ₃ .X ₄	-0,034	1,581	1,875
X ₁ .X ₃ + X ₂ .X ₄	-0,597	0,263	1,126
X ₁ .X ₄ + X ₂ .X ₃	0,047	0,562	-0,625

X₁ Tween 80^R

X₂ Veegum HV^R

X₃ Propilenoglicol

X₄ Ácido sórbico

$$y = 5,524 + 0,790X_1 + 0,359X_2 - 0,024X_3 - 0,397X_4 - 0,034(X_1.X_2 + X_3.X_4) - 0,597(X_1.X_3 + X_2.X_4) + 0,047(X_1.X_4 + X_2.X_3)$$

(equação 5.5)

$$y = 16,856 + 1,317X_1 + 3,951X_2 - 0,523X_3 + 0,397X_4 - 0,034(X_1.X_2 + X_3.X_4) - 0,597(X_1.X_3 + X_2.X_4) + 0,562(X_1.X_4 + X_2.X_3)$$

(equação 5.6)

$$y = 76,663 - 1,625X_1 + 23,125X_2 + 0,875X_3 - 1,375X_4 + 1,875(X_1.X_2 + X_3.X_4) + 1,126(X_1.X_3 + X_2.X_4) - 0,625(X_1.X_4 + X_2.X_3)$$

(equação 5.7)

5.3.1. Projeto fatorial de primeira ordem

Com o objetivo de verificar se a região experimental selecionada já continha as melhores condições de processo, planejou-se o projeto fatorial de primeira ordem. Este foi constituído por um projeto fatorial completo 2^2 com três pontos centrais. A matriz de ensaios com as variáveis nas unidades originais e codificadas com seus respectivos resultados, encontram-se na tabela 5.21.

Tabela 5.21 Matriz de ensaios com as respectivas respostas, para o projeto fatorial completo 2^2 com três pontos centrais.

ensaio número		Tween 80 ^R (g/100,0 mL)		Veegum HV ^R (g/100,0 ml)	
a. variáveis em unidades originais					
25*		1,00		1,00	
26*		3,00		1,00	
27*		1,00		2,00	
28*		3,00		2,00	
29*		2,00		1,50	
30*		2,00		1,50	
31*		2,00		1,50	
b. variáveis codificadas					
FÓRMULAS	X ₁	X ₂	pH	visc.	vol.sed.
25	-1	-1	7,33	9,48	60,0
26	+ 1	-1	7,41	7,37	48,0
27	-1	1	7,60	14,75	80,0
28	1	1	7,50	18,96	85,0
29	0	0	7,44	16,86	100,0
30	0	0	7,50	16,86	98,0
31	0	0	7,40	16,86	95,0
Tensoativo			Suspensor		
-1	+ 1		-1	+ 1	
1,0	3,0		1,0	2,0	

* A cada fórmula foi acrescentado o fármaco (6,4 g), poliol (20,0 ml), conservante (0,1 g), edulcorante (0,4 g) e água destilada para completar 100 ml de amostra.

X₁ Tween 80^R

X₂ Veegum HV^R

Obsestando-se a tabela 5.21, a análise dos resultados mostra que:

- Os valores de pH já se encontram em condições adequadas, isto é próximo da neutralidade, comprovando a eficácia da análise da meia fração do projeto 2⁴;
- Os valores de viscosidade estão, também, compatíveis com os de uma suspensão dessa natureza, principalmente, quando se tem valores altos de volume de sedimentação, obedecendo a lei de Stokes.
- O volume de sedimentação apresentou maior variabilidade, merecendo análise mais pormenorizada, com vistas a determinação da formulação ótima.

5.3.2. Análise do projeto de primeira ordem, para o volume de sedimentação.

O modelo linear representativo da região explorada foi:

$$y = 97,67 - 1,75X_1 + 14,25X_2 \quad (\text{equação 5.8})$$

O arranjo permitiu o cálculo:

- do erro experimental, $s = 2,52$, por meio do ponto central;
- do coeficiente da interação X_1X_2 , $b_{12} = 4,25$;
- da curvatura do modelo, mediante a estimativa de $b_{11} + b_{22}$, cujo valor encontrado foi $-29,42$.

Analisando os valores anteriores pode-se verificar que tanto o coeficiente da interação b_{12} quanto a soma $b_{11} + b_{22}$, são significativos em relação ao erro experimental, sugerindo a realização de mais alguns ensaios para obtenção de um modelo quadrático (um polinômio de segundo grau).

5.3.3. Projeto fatorial de segunda ordem

O arranjo fatorial de segunda ordem é constituído por um projeto composto rotacionável. Este permite a exploração da maior área do círculo, delimitada pelo contorno da circunferência de raio 2, com as variáveis codificadas.

Foram analisados os resultados para as respostas viscosidade e volume de sedimentação. Estes permitiram a obtenção de dois modelos polinomiais quadráticos, que caracterizam duas superfícies de resposta (uma para a viscosidade e a outra para o volume de sedimentação). Com a interpretação destas superfícies, por meio de uma análise ou transformação canônica, associada à experiência do pesquisador, foi possível chegar a formulação ótima.

A matriz de ensaios com os resultados para este projeto está apresentada na tabela 5.22.

Tabela 5.22 Matriz de ensaios com as respectivas respostas, para o projeto fatorial rotacionável

ensaio número	Tween 80 ^R (g/100,0 mL)	Veegum HV ^R (g/100,0ml)
a. variáveis em unidades originais		
25*	1,00	1,00
26*	3,00	1,00
27*	1,00	2,00
28*	3,00	2,00
29*	2,00	1,50
30*	2,00	1,50
31*	2,00	1,50
32*	2,00	1,50
33*	0,59	1,50
34*	3,40	1,50
35*	2,00	0,80
36*	2,00	2,20

b. variáveis codificadas					
FÓRMULAS	X ₁	X ₂	pH	visc.	vol.sed.
25	-1	-1	7,33	9,481	60,0
26	+ 1	-1	7,41	7,374	48,0
27	-1	1	7,60	14,749	80,0
28	1	1	7,50	18,963	85,0
29	0	0	7,44	16,856	100,0
30	0	0	7,50	16,856	98,0
31	0	0	7,40	16,856	95,0
32	0	0	7,42	16,86	94,0
33	-2	0	7,47	15,802	83,0
34	+ 2	0	7,30	11,588	70,0
35	0	-2	7,25	6,321	45,0
36	0	+ 2	7,37	18,963	100,0

Tensoativo		Suspensor	
-1	+ 1	-1	+ 1
1,0	3,0	1,0	2,0

* A cada fórmula foi acrescentado o fármaco (6,4 g), poliol (20,0 ml), conservante (0,1 g), o edulcorante (0,4 g) e água destilada para completar 100 ml de amostra

X₁ Tween 80^R

X₂ Veegum HV^R

5.3.4. Análise dos resultados com base nos modelos ajustados.

O ajuste dos modelos foi feito com o auxílio do programa STATGRAPHICS, STSC, Inc., versão 2.7, para microcomputadores compatíveis com IBM/PC. Os principais parâmetros obtidos estão apresentados na tabela 5.23

Tabela 5.23 Parâmetros estimados com a regressão múltipla, para os polinômios de segundo grau para os dados experimentais de viscosidade e de volume de sedimentação.

variável independente	coeficiente	erro padrão	nível de significância
a. modelo da viscosidade			
constante	16,86	0,60	0,0000
X ₁	- 0,45	0,43	0,3042
X ₂	4,35	0,43	0,0001
X ₁ ²	- 1,72	0,48	0,0116
X ₂ ²	- 2,25	0,48	0,0034
X ₁ X ₂	1,58	0,60	0,0399
b. modelo do volume de sedimentação			
constante	96,77	2,60	0,0000
X ₁	- 3,18	1,87	0,1415
X ₂	16,87	1,87	0,0001
X ₁ ²	-11,73	2,10	0,0014
X ₂ ²	-13,75	2,10	0,0006
X ₁ X ₂	4,25	2,65	0,1598

X₁ Tween 80^R

X₂ Veegum HV^R

a. Análise do modelo polinomial da viscosidade

Com base na tabela anterior, a equação do modelo ajustada para a viscosidade foi:

$$y = 16,86 - 0,45X_1 + 4,35X_2 - 1,72X_1^2 - 2,25X_2^2 + 1,58X_1^2X_2^2$$

(equação 5.9)

O resultado do ajuste do modelo mostrou que a variável X_1 (Tween 80^R) apresentou: efeito principal, representado pelo coeficiente (b_1), insignificante, quando comparada ao seu erro padrão; o coeficiente quadrático (b_{11}), com nítida influência positiva no modelo viscosidade, confirmando a curvatura da superfície de resposta.

A variável X_2 (Veegum HV^R) apresentou efeito principal significativo demonstrado pelo seu coeficiente linear (b_2), com influência positiva no modelo viscosidade. O coeficiente quadrático (b_{22}), desta variável, apresentou efeito significativo negativo.

Em relação a interação entre as variáveis X_1 e X_2 , a equação 5.6. foi confirmada a significância deste coeficiente (b_{12}) e mantido o valor originalmente determinado no modelo de primeira ordem.

Verifica-se mais uma vez que a análise por meio de projetos dessa natureza, oferece claramente a possibilidade de se medir o efeito da interação, o que não é possível ser observado com a metodologia clássica de pesquisa (estudando-se uma variável por vez), onde só é permitida a estimativa de coeficientes lineares.

b. Análise do modelo polinomial do volume de sedimentação

A equação do modelo ajustada para a volume de sedimentação foi:

$$y = 96,77 - 3,18X_1 + 16,87X_2 - 11,73X_1^2 - 13,75X_2^2 + 4,25X_1^2X_2^2$$

(equação 5.10)

A equação mostra o efeito principal representado pelo coeficiente b_1 da variável X_1 (Tween 80^R), foi significativo com influência negativa no volume de sedimentação, o coeficiente quadrático (b_{11}) foi, também, significativo, confirmando a curvatura na superfície de resposta.

A variável X_2 (Veegum HV^R) teve uma influência fortemente positiva, como efeito principal (coeficiente b_2). Esta influência é neutralizada pelo coeficiente quadrático (b_{22}), fazendo com que o saldo positivo entre estes coeficientes torne-se bem menor do que seria, se fosse desconsiderado o efeito de b_{22} .

Em relação a interação entre as variáveis X_1 e X_2 , pode-se observar que neste caso, a influência foi menos significativa do que para o modelo da viscosidade, confirmada pelos níveis de significância mostrados na tabela

c. Análise de variância para a regressão dos modelos polinomiais dados pelas equações (visc) e (volsed)

Por meio da tabela 5.24 pode-se observar que os níveis de confiança foram de 99,9996% tanto para o modelo viscosidade como para o do volume de sedimentação; e o erro padrão foi de 1,21 e 5,28 respectivamente.

Tabela 5.24 Análise de variância para os polinômios de segundo grau para os dados experimentais de viscosidade e de volume de sedimentação

FV	SQ	GL	s^2	F	P
Viscosidade	205,54	5	41,11	8,12	0.0004
Erro	8,77	6	1,46		
Erro padrão do modelo viscosidade ajustado = 1,21					
Volume	4159,19	5	831,84	29,62	0,0004
Erro	169,48	6	28,08		
Erro padrão do modelo vol. de sedimentação ajustado = 5,28					

FV fonte de variação

SQ soma dos quadrados

GL graus de liberdade

s^2 variâncias estimadas

F fator F

P Probabilidade

d. Comparação entre os valores observados (experimentais) e os valores ajustados

A tabela a seguir mostra os valores observados e os valores ajustados para o modelo viscosidade e volume de sedimentação. Pode-se observar que para os pontos considerados os valores ajustados encontram-se dentro do erro padrão indicado na tabela 5.23, com exceção das suspensões com as fórmulas de número 27 e 29, cujos desvios são maiores do que o erro padrão, porém nenhum deles maior do que 3 vezes o valor de 1,21.

Tabela 5.25. Comparação entre os valores observados e os valores ajustados

FÓRM.	X ₁ var.	X ₂ codif	visc. obs.	visc. ajust.	vol. sed. obs.	vol. sed. ajust.
25*	-1	-1	9,481	10,60	60,0	61,85
26*	+1	-1	7,374	6,48	48,0	47,00
27*	-1	1	14,749	16,14	80,0	87,08
28*	1	1	18,963	18,34	85,0	89,23
29*	0	0	16,856	14,76	100,0	97,77
30*	0	0	16,856	12,76	98,0	97,77
31*	0	0	16,856	16,26	95,0	97,77
32*	0	0	16,856	18,53	94,0	97,77
33*	-2	0	15,802	16,87	83,0	77,92
34*	+2	0	11,588	16,87	70,0	68,96
35*	0	-2	6,321	16,87	45,0	45,66
36*	0	+2	18,963	16,87	100,0	93,23

* A cada fórmula foi acrescentado o fármaco (6,4 g), poliol (20,0 ml), conservante (0,1 g), o edulcorante (0,4 g) e água destilada para completar 100 ml de amostra

X₁ Tween 80^R

X₂ Veegum HV^R

5.3.5 Análise dos modelos ajustados pela técnica da superfície de resposta

Com as equações dos modelos ajustados foi possível analisar a influência das variáveis independentes (codificadas), nas variáveis dependentes, por meio da técnica da superfície de resposta. Esta técnica é muito útil quando se busca a região ótima de operação de um processo. Ela permite o acoplamento dos vários modelos ajustados à região em estudo, levando em consideração todas as relações entre as respostas e as variáveis independentes envolvidas no processo.

A metodologia de análise aplicada a este caso, incluindo a análise canônica, bem como as discussões pertinentes, estão descritas nos itens a, b e c.

a. Superfície de resposta para o modelo viscosidade

A superfície de resposta para a equação 5.9 do modelo viscosidade está apresentada na figura 7. Esta mostra a representação tridimensional do comportamento

da variável resposta como uma função das variáveis codificadas, X_1 (Tween 80^R) e X_2 (Veegum HV).

Analisando-se a figura 7.a, pode-se verificar que aumentando-se X_1 e X_2 há um aumento na viscosidade até um certo nível, considerado então o ponto máximo desta resposta (melhores condições) para este processo, em termos de viscosidade.

Para uma melhor visualização desse ponto construíram-se as linhas de contorno (isolinhas), que são formadas por cortes da superfície de resposta à viscosidades (y) constantes, como mostra a figura 7.b. Observando-se as linhas de contorno nota-se que o centro da elipse coincide com o ponto de máximo, para o modelo da viscosidade.

b. Superfície de resposta para o modelo volume de sedimentação

A superfície de resposta para a equação 5.10 do modelo volume de sedimentação está apresentada na figura 8. Esta mostra a representação tridimensional do comportamento da variável resposta como uma função das variáveis codificadas, X_1 (Tween 80^R) e X_2 (Veegum HV) figura 8.a e as respectivas linhas de níveis, figura 8.b.

Analisando-se a figura 8.a, pode-se verificar que aumentando-se X_1 e X_2 há um aumento no volume de sedimentação até um certo nível, considerado então o ponto máximo desta resposta (melhores condições) para este processo, em termos de volume de sedimentação.

Observando-se a figura 8.b., nota-se que o centro da elipse coincide com o ponto de máximo, para o modelo do volume de sedimentação.

Figura 7. Superfície de resposta e curvas de nível obtidas a partir do polinômio dado pela equação 5.9.

Figura 8. Superfície de resposta e curvas de nível obtidas a partir do polinômio dado pela equação 5.10.

c. Transformação canônica para os modelos de viscosidade e de volume de sedimentação

A transformação canônica consiste de uma translação da origem para o ponto estacionário (extremum), eliminando os termos lineares do polinômio original, seguida de uma rotação dos novos eixos, com a eliminação da interação, obtendo-se uma superfície simétrica, representada por uma equação do tipo:

$$y = y_0 + B_{11}W_1^2 + B_{22}W_2^2 + \dots B_{kk}W_k^2 \quad (\text{equação 5.11})$$

onde :

y = resposta ajustada;

y_0 = resposta estimada no ponto estacionário;

W_1, W_2 e W_k = variáveis canônicas;

B_{11}, B_{22} e B_{kk} = coeficientes da equação na forma canônica.

A importância da análise canônica é que ela permite avaliar a natureza da superfície de resposta, que torna-se cada vez mais complexa a medida que o número de variáveis independentes aumenta.

As equações para os modelos viscosidade e volume de sedimentação na forma canônica encontradas foram:

a. viscosidade

$$y = 19,49 - 1,30 W_1^2 - 2,67 W_2^2 \quad (5.12)$$

b. volume de sedimentação

$$y = 101,95 - 10,52 W_1^2 - 15,10 W_2^2 \quad (5.13)$$

Para estas equações o ponto estacionário foi denominado de S (origem das coordenadas canônicas). Os coeficientes B_{11} e B_{22} apresentaram sinais negativos para ambos os modelos (viscosidade e volume de sedimentação), indicando que o movimento em qualquer direção dos eixos, partindo-se de S, resulta em uma perda quadrática da resposta, mostrando a existência de um máximo, para ambos os polinômios. Uma superfície desta natureza é chamada de parabolóide elíptico. Prosseguindo a análise da equação na forma canônica, para o modelo viscosidade, observa-se que o coeficiente B_{22} é maior que o coeficiente B_{11} , mostrando que a influência da concentração de Veegum HV^R é maior do que a do Tween 80^R. Esta condição é indicada pela forma elíptica das curvas de nível.

Figura 9. Superfície de resposta e curvas de nível, na forma canônica, obtidas a partir do polinômio dado pela equação 5.12.

Figura 10. Superfície de resposta e curvas de nível, na forma canônica, obtidas a partir do polinômio dado pela equação 5.13.

Para o volume de sedimentação a equação na forma canônica mostra que o coeficiente B_{22} é ligeiramente maior que o coeficiente B_{11} demonstrando que a influência das duas variáveis independentes, isoladamente, apresentam comportamento muito parecido, indicado pela relação entre os coeficientes B_{22}/B_{11} . Esta condição indica que a curva de nível apresenta forma elíptica, porém mais próxima da forma de círculo e a superfície de resposta próxima da de um hemisfério.

A análise canônica mostrou que os pontos estacionários são ambos pontos de máximos, com as coordenadas, (0,37 ; 1,10 e - 0,025 ; 0,61) para o modelo da viscosidade e volume de sedimentação, respectivamente. Em relação ao ponto máximo do volume de sedimentação, o valor encontrado pelo modelo matemático foi ligeiramente maior que o máximo experimental, devido ao ajuste do polinômio.

As relações lineares entre as coordenadas X_1 e X_2 com as coordenadas canônicas W_1 e W_2 , estão apresentadas nas equações 5.14 e 5.15, para os modelos da viscosidade e nas equações 5.16 e 5.17 para o volume de sedimentação.

$$W_1 = -0,77 + 0,40 X_1 + 0,57 X_2 \quad (5.14)$$

$$W_2 = 1,23 - 0,92 X_1 - 0,82 X_2 \quad (5.15)$$

$$W_1 = -0,24 + 0,55 X_1 + 0,42 X_2 \quad (5.16)$$

$$W_2 = 0,58 + 0,83 X_1 + 0,91 X_2 \quad (5.17)$$

Convém ressaltar que, estando-se em quaisquer coordenadas, pode-se retornar às variáveis originais mediante as transformações pertinentes.

5.3.6. Determinação das melhores condições do processo, com base na análise canônica

Por meio do acoplamento dos contornos dos modelos é possível definir a região onde se localiza as melhores condições do processo.

No presente trabalho a região próxima do ponto máximo para o volume de sedimentação ($X_1 = - 0,025$ e $X_2 = 0,61$), foi conveniente, porque com volume de sedimentação 100,0 obteve-se, também, valores adequados para a viscosidade. Este valor de melhores condições para os dois modelos pode ser encontrado substituindo-se as coordenadas do ponto ótimo do o volume de sedimentação, na equação da viscosidade (5.9), e estimando-se para esta última o valor 18,66 cp. Este valor confere à suspensão de benzoilmetronidazol as características desejadas.

A figura 11 confirma este resultado.

Para a escolha da melhor região, fórmula ótima, considerou-se os pontos estacionários do volume de sedimentação, sendo X_1 e X_2 igual a -0,025 e 0,61 em unidades codificadas e os valores em unidades originais 1,975g/100ml e 1,805g/100ml, respectivamente.

A tabela 5.25 mostra que os resultados observados estão de acordo com os preditos pelo modelo, confirmando assim que a aplicação de técnicas de otimização no planejamento de fórmulas ampliam as perspectivas de racionalizar processos de formulação.

Figura 11. Acoplamento das curvas de nível obtidas a partir das equações 5.9 e 5.10.

Tabela 5.26. Resultados das respostas observadas e estimadas de acordo com cada modelo, da fórmula de benzoilmetronidazol otimizada.

modelo	resp*		variáveis independentes			
			var. cod.		unid. originais	
	estim	obs	X ₁	X ₂	t**	v**
visc.	18,66	19,3	- 0,025	0,61	1,975	1,805
vol. sed	101,95	100,0	- 0,025	0,61	1,975	1,805

* viscosidade em cp, vol. sed. adimensional e teor g/mL.

** em g/100 ml.

A fórmula otimizada foi submetida ao teste de eficiência de conservantes sendo desafiada frente aos microorganismos recomendados pela Farmacopéia Britânica. A fórmula mostrou-se adequada segundo os critérios desta farmacopéia. Na tabela 5.26 estão os resultados do teste de eficiência do sistema conservante.

Tabela 5.27. Resultado do teste de eficácia de conservante da suspensão de benzoilmetronidazol otimizada segundo o critério da Farmacopéia Britânica.

tempo	número de sobreviventes para cada microorganismo teste (10 ⁵)				
	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.aureus</i>	<i>C.albicans</i>	<i>A.niger</i>
0h	302	42	10	22	52
6h	< 10	< 10	< 10	30	61
24h	< 10	< 10	< 10	30	31
48h	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
7d	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
14d	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
21d	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
28d	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10

O teor do fármaco na fórmula otimizada foi determinado segundo o método descrito no item 4.2.2.6. A figura 12 mostra a os espectros obtidos da solução de leitura do padrão e amostra.

Figura 12. Espectros no ultravioleta de solução de leitura do padrão e amostra

CAPÍTULO 6

CONCLUSÕES

Fundamentada na análise estatística dos resultados obtidos ao longo de toda a experimentação, concluiu-se que:

- Por meio da análise de variância e a comparação das médias, empregando o teste "t" de student, das 16 fórmulas obtidas com o projeto fatorial fracionado quadrado greco-latino, a fórmula mais adequada para a suspensão de benzoilmetronidazol foi a de número 3.
- A fórmula da suspensão de benzoilmetronidazol de número 3 apresentou valores de pH próximo a neutralidade quando a concentração do propilenoglicol estava em 20% (p/v) e o ácido sórbico em 0,1% (p/v).
- As equações dos modelos ajustados, superfície de resposta, para a viscosidade e volume de sedimentação foram respectivamente:

$$y = 16,86 - 0,45X_1 + 4,35X_2 - 1,72X_1^2 - 2,25X_2^2 + 1,58X_1X_2$$

$$y = 96,77 - 3,18X_1 + 16,87X_2 - 11,73X_1^2 - 13,75X_2^2 + 4,25X_1X_2$$

- As equações canônicas para os modelos de viscosidade e volume de sedimentação foram, respectivamente:

$$y = 19,49 - 1,30 W_1^2 - 2,67 W_2^2$$

$$y = 101,95 - 10,52 W_1^2 - 15,10 W_2^2$$

- Pelos coeficientes das equações canônicas concluiu-se que a variável W_2 exerce maior influência do que a variável W_1 , para ambos os modelos, sendo que esta influencia é mais marcante para o modelo da viscosidade (B_{11}/B_{22}) = 14,1 e (B_{11}/B_{22}) = 9,69 para a viscosidade e o volume de sedimentação, respectivamente.
- As melhores concentrações do Tween 80^R e do Vegum HV^R 1,975 g/100 ml e 1,8 g/100 ml, em variáveis originais, seguindo o ponto de máximo da equação canônica, encontrada para o modelo do volume de sedimentação. Neste ponto o valor da viscosidade, pela equação 5.1 foi 18,66, apresentando um pequeno afastamento da viscosidade máxima, como mostrou o

acoplamento das linhas de nível. As coordenadas das melhores condições para este processo são melhor visualizadas na tabela a seguir:

modelo	resp*	variáveis independentes			
		var. cod.		unid. originais	
		X_1	X_2	t^{**}	v^{**}
visc.	18,66	- 0,025	0,61	1,975	1,805
vol. sed	101,95	- 0,025	0,61	1,975	1,805

* viscosidade em cp e vol. sed. adimensional.

** em g/100 ml.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 AKERS, M. J. , TAYLOR, C. J. Official methodes of preservative evaluation and testing. In: DEYER, S. P., BAIRD, R. M. *Guide to microbiological control in pharmaceuticals*. London: Ellis Horwood, 1990. p.292-303.
- 2 AKHANAZAROVA, S., KAFAROV, V. *Experiment optimization in chemical engineering*, Moscow: Mir Publishers, 1982. p. 151-293.
- 3 ANSEL, H. C. , POPOVICH, N. G. *Pharmaceuticeutical dosage forms and drug delivery systems*, 5 ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1990 p. 225-254.
- 4 ASCHE, H. Beitrag zur Viskositatsmessung pseudoplastischer substanzen. Erfahrungen bei Erfassung und Vergleich von Messwerten mit verschiedenen Viskosimetern. *Pharma. Acta Helv.*, Zurich, v. 49, p. 277-284, 1974.
- 5 ARANCIBIA, A. Consideraciones sobre la formulacion de suspensiones farmaceuticas. *Farmaco, Ed. Prat.*, Pavia, v. 26, p. 721-752, 1971.
- 6 BARATA R.L.S. *Síntese de tensoativo à base de sacarose pelo processo sem solvente: uma análise das variáveis do processo*. São Paulo, 1992. 77p. (Dissertação Mestrado - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo).
- 7 BARR, M. , TICE, L. F. The preservation of aqueous preparations containing nonionic surfactants I. Growth of microorganisms in solutions and dispersions of nonionic surfactantes *J. Am. Pharm. Assoc.*, Washington, v. 46, p. 442-445, 1957.
- 8 BARR, M. , TICE, L. F. The preservation of aqueous preparations containing nonionic surfactants II. Preservative studies in solutions and products containing nanionic surfactantes *J. Am. Pharm. Assoc.*, Washington, v. 46, p. 444-451, 1957.
- 9 BARR, M. Clays as dispersion stabilizer. *J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, Washington, v. 4, p. 180-183, 1964.
- 10 BEAN, H. S., DEMPSEY , G. The effect of suspensions on the bactericidal activity of m-cresol and benzalkoniun chloride. *J. Pharm. Pharmacol.*, London, v.23, p. 699-704, 1971.
- 11 BEAN, P. A. Preservatives for pharmaceuticals. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, New York, v.23, 703-720, 1972.

- 12 BENKADDOUR, N., BONNET, L., RODRIGUEZ, F., ROUFFIAC, R.
Optimisation statistique de la formulation de matrices hydrophiles de paracétamol. *Labo-Pharma Probl. Tech.*, Paris, v.32, n. 341, p.270-278, 1984.
- 13 BERTUZZI, H. J. *Tensoativo não iônico na estabilização de suspensões*. São Paulo, 1980, 123p. (Dissertação Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo).
- 14 BOHIDAR, N. R. Pharmaceutical formulation optimization using SAS. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, New York, v. 17, n. 3, p. 421-441, 1991.
- 15 BOLLE, A. , MIRIMANOFF, A. Antagonism between nonionic detergents and antiseptics. *J. Pharm. Pharmacol.*, London, v.2, p.685-692, 1950.
- 16 BOLTON, S. *Pharmaceutical statistics. Pratical and Clinical Applications*: New York, Marcel Dekker, 1984. p. 151-293.
- 17 BONDI, J. V., SCHNAARE, R. L., NIEBERGALL, P. J., SUJITA, E. T. Effect of absorbed surfactant on particle-particle interactions on hydrophobic suspensions. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 62, p. 1731-1733, 1973.
- 18 BOX, G. E. P., HUNTER, W. G., HUNTER, J. S. *Statistics for experimenters*: New York, John Wiley. 1978. p.653.
- 19 BRAIDOTTI, L., BULGARELLI, D. *Técnica farmacêutica*, Milano: Guadagni, 1974, p. 134-149.
- 20 BRITISH pharmacopoeia. London: Her Majesty's Stationary Office, 1988.
- 21 CALCINARI, R. Il potenziale zeta e la sua importanza nella tecnologia farmaceutica. *Farmaco Ed. Prat.*, Pavia, v. 25, p. 24-28, 1970.
- 22 CARAMELLA, C., COCCHI, G. A., CASTELLANI, P., CONTE, U., COLOMBO, P., LA MANNA, A. The effect of some wetting agents on the characteristics of suspensions of sulfamethoxypyridazine and its N'acetyl derivative. *Boll. Chim. Farm.*, Milan, v. 115, p. 658-666, 1976.
- 23 CARAMELLA, C., COLOMBO, P., CONTE, U., LA MANNA, A. Rheological analysis in the evaluation and prediction of the stability of suspensions. *Farmaco Ed. Prat.*, Pavia, v. 29, p. 318-332, 1974.

-
- 24 CAMELLA, C., CONTE, U., COLOMBO, P., COCCHI, G. A. - Applicazione dell'analisi reologica allo studio della stabilità fisica di sospensioni di antibiotici. *Boll. Chim. Farm.*, Milan, v.115, p. 702-713, 1976.
- 25 CAMELLA, C., CONTE, U., COLOMBO, P., LA MANNA, A. A study on the electrokinetic properties of some chemotheapeutic drug suspensions. *Farmaco Ed. Prat.* Pavia, v. 34, p. 295-305, 1979.
- 26 CARSTENSEN, J. T. , SU, K. S. E. Solvation of montmorillonite. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 61, p. 139-141, 1942.
- 27 CARSTENSEN, J. T. , SU, K. S. E. Sedimentation kinetics of flocculated suspension II: Sedimentation below the critical height. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 59, p. 671-676, 1970.
- 28 CARSTENSEN, J. T. , SU, K. S. E. Sedimentation kinetics of flocculated suspensions I: Initial sedimentation region. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 59, p. 666-670, 1970.
- 29 CASADIO, S., PEREGO, R., SLAVI, E.; TREU, I. *Tecnologia farmaceutica*. 2. ed., Milan: Cisalpino Goliardia, 1972. v. 1, p. 367-404.
- 30 CIULLO, P. A. Rheological properties of magnesium aluminum silicate/xanthan gum dispersions. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, New York, v. 32, p. 275-285, 1981.
- 31 CLARA ESKENASI, U. Obtención de la carboximetilcelulose sódica y sus aplicaciones. *An. Fac. Farm. Bioquím. Univ. Nac. Mayor San Marcos*, Lima, v. 5, p. 549-557., 1954.
- 32 CID, C., GAI, M. N., ZURICH, T. Evaluation del avicel RC-591 y del veegum regular como agentes de suspension em formulaciones farmaceuticas. *Safybi*, Buenos Aires, n.77, p. 2654-2658, 1988.
- 33 COATES, D. Preservative/colloid interaction. *Manuf. Chem. Aerosol News*, London, v. 44, n.10, p. 34-37, 1973.
- 34 COATES, D. Preservatives - microbiological and physical factors, *Manuf. Chem. Aerosol News*, London, v. 44, n.6, p. 35-37, 1973.
- 35 COLLETT, D. M. , AULTON, M. E. *Pharmaceutical Practice*, London: Longman Singapore, 1990. p.99-104.

- 36 COSMETICS TOILETRIES FRAGRANCES ASSOCIATION. Cosmetic preservatives encyclopedia / Antimicrobials. *Cosmet.Toilet.*, Oak Park, v. 105, n. 3, p. 49-60, 61-63 1990
- 37 COSMETICS TOILETRIES FRAGRANCES ASSOCIATION. Compounds that contribute to preservative activity. *Cosmet.Toilet.*, Oak Park, v. 105, n. 3, p. 61-63, 1990
- 38 COWEN, R. A. , STEIGGER, B., Why a preservative system must be tailored to a specific product, *Cosmet.Toilet.*, Oak Park, v.92(3), n. 3, p.15-16, 18-20, 1977.
- 39 CROSHAW, B., Preservatives for cosmetics and toiletries. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, New York, v.28, n.3, p.3-16, 1977.
- 40 DAFFRE, C. Suspensões. In: HELOU, J. H., CIMINO, J. S., DAFFRE, C. *Farmacotécnica*. São Paulo, Artpress: 1975, p. 229-247.
- 41 DENOEL, A. Aspects theoriques et pratiques de la preparation des emulsions et des suspensions en prescription magistrale. *Farmaco, Ed. prat.*, Pavia, v. 17, p. 243-279, 1962.
- 42 DENYER, S. P. WALLHAEUSSER, K. H., Antimicrobial preservative and properties. In: DEYER, S. P., BAIRD, R. M., eds. *Guide to microbiological control in pharmaceuticals*. London: Ellis Horwood, 1990. p.251-273.
- 43 DEUTCHES Arzneibuch. 9 ed. Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag, Govi-Verlag Gmbh, 1986.
- 44 *DICIONÁRIO* de especialidades farmacêuticas. São Paulo: Editora de Publicações Científicas, 1991/1992.
- 45 DONDI, G. , ZANOTTI GEROSA, A. Influenza dell' aggiunta di sostanze stabilizzanti colloidali sulle proprietà reologiche di una sospensione. *Boll. Chim. Farm.*, Milan, v. 120, p. 606-617, 1981.
- 46 DU BAN, G. Recenti acquisizioni nel campo degli agenti tensioattivi e nella preparazione di sospensioni, emulsioni solubilizzazioni. Part. I. *Boll. Chim. Farm.*, Milan, v. 102, p. 486-501, 1963.
- 47 DU BAN, G. Recenti acquisizioni nel campo degli agenti tensioattivi e nella preparazione di sospensioni, emulsioni e solubilizzazioni. Part. II. *Boll. Chim. Pharm.*, Milan, v.103, p.287-298, 1964.

-
- 48 ECANOW, B. , TAKRURI, H, SCHNAARE, R. L., *Liquid medications*. in: HOOVER, J. E. ,*Dispensing of medication*. 8. ed. Easton: Mack,, 1976. p.178-227.
- 49 ECANOW, B. , TAKRURI, H. Flocculation theory and polysorbate 80-sulfaguanidine suspensions. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 59, p. 1848-1849, 1970.
- 50 ECANOW, B. , WILSON, R. G. Powdered particle interactions: suspension flocculation and caking II. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 52, p. 1031-1038, 1963.
- 51 ECANOW, B., GRUNDMAN, R., WILSON, R. Flocculation and coagulation. *Am. J. Hosp. Pharm.*, Washington, v. 23, p. 404, 1966.
- 52 EVANS, W. P. The solubilisation and inactivation of preservatives by nonionic detergents. *J. Pharm. Pharmacol.*, London, v. 16, p. 323-331, 1964.
- 53 FAIRBROTHER, J. E. Analytical examination of hydrocolloids. *Pharm. J.*, London, v. 223, p. 331-334, 1979.
- 54 FARLEY, C. A., LUND, W. Suspending agents for extemporaneous dispersing: Evaluation of alternatives to tragacanth. *Pharm. J.*, London, v. 216, p. 562-566, 1976.
- 55 FARMACOPÉIA brasileira. 3 ed. São Paulo: Organização Andrei Editora, 1977.
- 56 FARMACOPÉIA dos Estados Unidos do Brasil. 2 ed. São Paulo: Indústria Gráfica Siqueira, 1959.
- 57 FOERNZLER, E. C.; MARTIN, A. N.; BANKER, G. S. The effect of thixtropy on suspension stability. *J. Am. Pharm. Assoc.*, Washington, v. 49, p. 249-252, 1960.
- 58 FONNER Jr., D. E., BUCK, J. R., BANKER, G. S. Mathematical optimization techniques in drug product design and process analysis. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 59, p. 1587-1596, 1970.
- 59 FRITZ, H. , BECKER, H. The suitability of carboximethylcellulose as a vehicle reproductive studies. *Arznein Forsch.*, Aulendorf, v. 31, p. 813-815, 1981.
- 60 GERDING, P. W. , SPERANDIO, G. J. The determination of the relative efficiency of suspending agents. *Drug Stand*, Washington, v. 21, p. 215-221, 1953.

-
- 61 GOLDSTEIN, S. W. A hydrophilic suspension vehicle. *J. Am. Pharm. Assoc.*, Washington, v.13, p. 550-552, 578, 1952.
- 62 GOLDSTEIN, S. W. Cellulose derivatives as aids in extemporaneous compounding. *J. Am. Pharm. Assoc.*, Washington, v. 14, p. 111-114, 116-118, 1953.
- 63 GRIFFIN, W. C. Classification of surface-active agents by EHL. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, New York, v. 1, p. 311-326, 1949.
- 64 GUIMARÃES, E. M. P., SANTOS, M. M., BARDUK, O., PINTO, T. J. A., BERTUZZI, H. J., SAITO, T. Eficácia de conservantes em suspensão de caulim. *Rev. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo*, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 28-38, 1982.
- 65 GUINARD, P., LEUENBERGER, H., SUCKER, H. Optimisation statistique d'une formulation pharmaceutique. *Labo-Pharma Probl. Tech.*, Paris, v.26, N.280, p.827-837, 1978.
- 66 GURNY, R., BOYMOND-GENOUD, M., GUITARD, P. Analyse par régression multiple de l'influence de la taille des particules et de la présence de lactoses sur la dissolution de capsules gélatineuses de phénacétine et d'acétanilide. *J. Pharm. Belg.*, Brussels, v. 33, n.1, p.6-10, 1970.
- 67 GURNY, R., BURI, P., GUITARD, P., LEUENBERGER, H. Réalisation et développement de formes médicamenteuses à libération contrôlée par des films méthacryliques. Etude par analyse orthogonale des facteurs influençant le transport à travers un film plan. *Pharm. Acta Helv. Zurich*, v. 52, n. 8, p.175-181, 1977.
- 68 GYSELINCK, P., REMON, J. P., van SEVEREN, R.; BRAECKMAN, P. Methyl en carboxymethylcellulose in de receptur verband concentratie - type - viscositeit. *Farm. Tijdschr. Belg.*, Brussels, v. 58, p. 37-46, 1981.
- 69 HABERLE, J. E. Calamine lotion prepared with microcrystalline cellulose. *Am. J. Hosp. Pharm.*, Washington, v. 25, p. 180-182, 1968.
- 70 HAINES Jr., B. A. , MARTIN, A. N. Interfacial properties of powdered material; caking in liquid dispersion I. Caking and flocculation studies. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 50, p. 228-232, 1961.
- 71 HERSEY, J. A. , COOK, P.C. Homogeneity of pharmaceutical dispersed systems. *J. Pharm. Pharmacol.*, London, v.26, p.126-133, 1974.

-
- 72 HIESTAND, E. N. Physical properties of coarse suspensions. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 61, p. 268-272, 1972.
- 73 HIESTAND, E. N. Theory of coarse suspension formulation. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 53, p. 1-18, 1964.
- 74 HIGUCHI, T. Some physical chemical aspects of suspension formulation. *J. Am. Pharm. Assoc.*, Washington, v. 47, p. 657-660, 1958.
- 75 HIGUCHI, W.I., SWARBRICH, J., HO, N. F. H., SIMONELLI, A. P., MARTIN, A. Particle phenomena and coarse dispersions in: OSOL, A. , HOOVER, J. E., eds. *Remington's pharmaceutical sciences*, 17. ed., Easton: Mack, 1985, p.301-329.
- 76 IDSON, B. , BACHYNSKY, M. O. Natural raw materials in semi-solid dosage forms. *Drug Cosmet. Ind.*, New York, v. 122, p. 38, 44, 153-154, 1978.
- 77 JAMES, A. M. , GODDARD, G. H. Barium meals: A physical chemical study of the adsorption of hydrocolloids by barium sulphate. *Pharm. Acta Helv.*, Zurich, v. 47, p. 244-256, 1972.
- 78 JONES, R. D. C., MATTHEWS, B. A., RHODES, C. T. Physical stability of sulfaguanidine suspensions. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 58, p. 518-520, 1970.
- 79 KABBRE, S. P., DEKAY, H. G., BANKER, G. S. Rheology and suspension activity of pseudoplastic polymers I. Quantification of pseudoplastic viscosity as a second order function of the rheogram and relationship of this parameter to concentration *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 53, p. 492-495, 1964.
- 80 KABBRE, S. P., DEKAY, H. G., BANKER, G. S. Rheology and suspension activity of pseudoplastic polymers II. Comparison of suspension activity of pseudoplastic polymers at fixed viscosities. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 53, p. 495-499, 1964.
- 81 KALISH, J., Cosmetic preservative, *Drug Cosmet. Ind.*, New York, v.98, n. 6, p.137-138, 1966.
- 82 KAYES, J. B. Pharmaceutical suspension: micro electro-phoretic properties. *J. Pharm. Pharmacol.*, London, v. 29, p. 163- 168, 1977.

-
- 83 KAYES, J. B. Pharmeceutical suspensions: relation between zeta potencial, sedimentation volume and suspension stability. *J. Pharm. Pharmacol.*, London, v. 29, p. 199-204, 1977.
- 84 KAYES, J. B. The effect of surface active agents on the zeta potential of particles in a model suspension system. *J. Pharm. Pharmacol.*, London, v. 25(suppl), p. 164, 1973.
- 85 KAZMI, S. J. A. , MITCHELL, A. G. Interaction of preservatives with cetomacrogol. *J. Pharm. Pharmacol.*, London , v. 23, p.482-489, 1971.
- 86 KAZMI, S. J. A. , MITCHELL, A. G. Preservation of solubilized and emulsified systems I. Correlation of mathematically predicted preservative availability with antimicrobial activity. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 67, p. 1260-1266, 1978.
- 87 KELLAWAY, I. W. , NAJIB, N. M. Hydrophilic polymers as stabilizers and flocculants of sulphadimidine suspensions. *Int. J. Pharm.*, London, v. 9, p. 59-66, 1981.
- 88 KHAN, K. A. , RHODES, C. T. Water-sorption of tablets desintegrants. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 64, p. 447-451, 1975.
- 89 LESSHAFT Jr., C. T., DEKAY, H. G. Comparison of the suspending activity of suspensions agents. *J. Am. Pharm. Assoc., Pract. Pharm. Ed.*, Washington, v. 15, p. 410-413, 1954.
- 90 LESSHAFT Jr., C. T., DEKAY, H. G. A study of the compatibility of various suspending agents. *Drug Stand.*, Washington, v. 22, p. 155-164, 1954.
- 91 LEVY, E.. Insights into microbiol adaptation to cosmetic and pharmaceutical products. *Cosmet. Toiletries*, Oak Park , v.102, n.12, p. 69-74, 1987.
- 92 LOWENTHAL, W. Metrology and Calculation in: OSOL, A. , HOOVER, J. E., eds., *Remington's pharmaceutical sciences*, 18 ed., Easton: Mack, 1990, p.69-103.
- 93 MAcCARTHY, T.J., MYBURG, J. A. The effect of tragacanth gel on preservative activity. *Pharm. Weekbl.*, Hilversum, v.109, p.265-268, 1974.
- 94 MADDOX, D. N. The role of p-hidroxybenzoate in modern cosmetics. *Cosmet., Toilet.*, Oak Park, v. 97, n.11, p. 85-88, 1982.

- 95 MANSOUR, Z. , GUTH, E. P. Complexing behavior of starches with certain pharmaceutical. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 57, p. 404-411, 1957.
- 96 MARTIN, A. N. Physical chemical approach to the formulation of pharmaceutical suspensions. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 50, p. 513-517, 1961.
- 97 MARTINDALE, *the extra pharmacopeia*. 29 ed., London, Pharmaceutical Press, 1989, p. 1355-1364.
- 98 MATTHEWS, B. A. Orthokinetic coagulation in pharmaceutical suspensions. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 62, p. 172-174, 1973.
- 99 MATTHWES, B. A. , RHODES, C. T. Some studies of flocculation phenomena in pharmaceutical suspensions. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 57, p. 569-573, 1968.
- 100 MATTHEWS, B. A. , RHODES, C. T. Use on the Derjaguin, Landau, Verwey and Overbeek theory in interpret pharmaceutical suspension stability. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 59, p. 521-525, 1970.
- 101 MENDELL, E. An evaluation of carboxymethyl starch as a tablet disintegrant. *Pharm. Acta Helv.*, Zurich, v. 49, p. 248-250, 1974.
- 102 MIYAWAKI, G. M., PATEL, N. K., KOSTENBAUDER, H. B. Interaction of preservatives with macromolecules III: Parahydrobenzoic acid esters in presence of some hydrophilic polymers. *J. Am. Pharm. Assoc.*, Washington, v. 48, p. 315-318, 1959.
- 103 MOES, A. Aspects theoriques et pratiques de la formulation des suspensions. *Farmaco, Ed. Prat.*, Pavia, v. 22, p. 119-151, 1967.
- 104 MOES, A. Influence de la méthode de mouillage des particules sur les propriétés rhéologiques et la stabilité physique des suspensions de sulfamide. *Pharm. Acta Helv.*, Zurich, v. 45, p. 101-110, 1970.
- 105 MOES, A. Nouveaux agents epaississant dans la formulation des suspensions, des emulsions et des gelees. *Farmaco, Ed. Prat.*, Pavia, v. 27, p. 119-146, 1972.
- 106 MOES, A. Preparation de suspensions stables de sulfamide et de palmitate de chloramphenicol. Étude théorique et pratique. *Pharm. Acta Helv.*, Zurich, v. 43, p. 290-320, 1968.

- 107 ROIG MONTBLANCH, A., TICO GRAU, J. R. , BARBÉ ROCABERT, C., PRATES GRAUET, S., FAULI TRILLO, C. Geles: Su empleo en farmacia y en cosmetica (II) *Circ. Farm.*, Barcelona, v. 308, p. 293 - 304, 1990.
- 108 MURANYI, A. A pelyhesítés (flokuláltatás) mint a gyógyszeres szuszpenziók előállításának új módszere. - *Gyogyszereszet*, Budapest, v. 23, p. 132-135, 1979.
- 109 NAIRN, J. G. *Solutions, emulsions, suspensions and extractives*. in: OSOL, A., HOOVER, J. E., eds. *Remington's pharmaceutical sciences*. 18. ed., Easton: Mack, 1990. p.115-119.
- 110 NASH, R. A. The pharmaceutical suspensions Part. I. *Drug Cosmet. Ind.*, New York, v. 97 (6), p. 843-846, 939, 942-944, 947-948, 950-951, 954, 1965.
- 111 NASH R. A. The pharmaceutical suspensions Part. II. *Drug Cosmet. Ind.*, New York, v. 98, n. 1, p. 39-40, 43, 128-133, 1966.
- 112 NASH, R. A. , HAEGER, B. E. Zeta potencial in the development of pharmaceutical suspensions. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 55, p. 829-837, 1966.
- 113 ORTH, D. S. , MILSTEIN, S. R., Rational development of preservative system for cosmetic produts, *Cosmet.Toilet.*, Oak Park, v.104, n.9, p.91-92, 1989.
- 114 ORTH, D. S., LUTES, C. M., Adaptation of bacteria to cosmetic preservatives. *Cosmet.Toiletries*, Oak Park, v. 100, n. 2, p.57-59, 63-64, 1985.
- 115 ORTH, D. S., LUTES, C. M., MILSTEIN, S. R., ALIIGER, J. J., Determination of shampoo preservative stability and apparent activation energies by the linear regression method of preservative efficacy testing, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, New York, v. 38, p.307-319, 1987.
- 116 ORTH, D. S., Principles of preservation. In: DEYER, S. P., BAIRD, R. M., eds. *Guide to microbiological control in pharmaceuticals*. London: Ellis Horwood, 1990. p.241-250.
- 117 PATEL, N K. , KOSTENBAUDER, H. B. Interaction of preservatives with macromolecules I. Binding of parahydroxybenzoic acid esters by polyoxyethylene 20 sorbitan monoleate (Tween 80). *J. Am. Pharm. Assoc.*, Washington, v. 47, p. 289-293, 1958.

- 118 PATEL, N. K., KENNON, L., LEVINSON, R. S. *Pharmaceutical suspensions*. in: LACHMAN, L., LIEBERMAN, H. A., KANIG, J. L., *The theory and practice of industrial pharmacy*, 3. ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1986, p. 479-501.
- 119 PHILIPPE, J. *Les méthodes statistiques en pharmacie et chimie. Applications a la recherche, a la production et au contrôle*. Paris: Masson, 1967.p 195-313.
- 120 POELMAN, M.-C, CHAUMEIL, J.-C., PLUSIEUX, F. Les interactions entre antiséptiques et surfactes I. -Étude de l'interactions parahydroxybenzoate de methyle - esters de sorbitanne polyoxéthylénés par le méthode des solubilités. *Ann. Pharm. Fr.*, Paris, v. 32, n. 11, p. 595-604, 1972.
- 121 POLDERMAN, J. Suspensions in pharmaceutical practice. *Boll. Chim. Farm.*, Milan, v. 101, p. 105-122, 1962.
- 122 PRISTA, L. N. , ALVES, A. C. *Tecnologia farmacêutica, farmácia galênica*. Lisboa: Fundação Calouste Guldenkian, 1967, v. 1, p. 1073-1131.
- 123 REES, J. E. Formulation of medicines for oral administration. *Pharm. J.*, London, v. 213, p. 266-272, 1974.
- 124 RIGAMONTI, S. , RUGGINENTI, G. Le sospensioni farmaceutiche. *Farmaco Ed. prat.*, Pavia, v. 24, p. 445-489, 1969.
- 125 ROHDEWALD, P. Quality of suspensions. *Cosmet. Perfum.*, Oak Park, v. 90 (5), p. 35-36, 38, 41-42, 44-45, 1975.
- 126 ROUFFIAC, R., MAGBI, M., RODRIGUEZ, F., BENKADDOUR, N., BONNET, L. Optimisation d'une theophylline a action prolongee sous forme de matrice hydrophile. *J. Pharm. Belg.*, Brussels, v. 42, n.1, p. 5-16, 1987.
- 127 SABRA, K., DEASY, P. B. Rheological and sedimentation studies on Instant Clearjel and Primogel suspensions. *J. Pharm. Pharmacol.*, London, v. 35, p. 275-278, 1983.
- 128 SAKASHITA, L. H. , BRESCIANE, L., SILVA, L. C., HOBBO, N. M., RIBEIRO, M. E. Agentes gelificantes. *Aerosol., Cosmet.*, São Paulo, v. 7, n. 47, p. 52 - 58, 1986.

- 129 SAKUDA, T. M. *Influência de agentes suspensores e edulcorantes na suspensão de estearato de eritromicina*, 99 p. São Paulo (Dissertação - Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo).
- 130 SAKUDA, T. M., HELOU, J. H., BERTUZZI, H. J., SAITO, T. Estabilidade de suspensões. Influência do Veegum HV^R na suspensão de estearato de eritromicina. *Rev. Farm. Bioquim..Univ. S. Paulo*, São Paulo, v. 23, n.1, p.19-32, 1987.
- 131 SAKUDA, T. M., OHARA, M. T., BERTUZZI, H. J., SAITO, T. Eficiência de conservantes em suspensão de caulim II. Ácido benzóico, benzoato de sódio e Nipaset^R. *Rev. bras. Farm.*, Rio de Janeiro, v. 44, n. 8, p. 63-67, 1983.
- 132 SAMYN, J. C. An industrial approach to suspension formulation. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 50, p. 517-522, 1961.
- 133 SCHEER, A. J. Practical guidelines for suspensions formulation. *Drug Cosmet. Ind.*, New York, v. 128, n.4, p. 40-44, 116, 1981.
- 134 SCHNEIDER, W., STAVCHANSKY, S., MARTIN, A. Pharmaceutical suspensions and the DLVO theory. *Am. J. Pharm. Ed.*, Bethesda, v. 42, p. 280-289, 1978.
- 135 SCHWARTZ, J. B., FLAMHOLZ, J. R., PRESS, R. H. Computer optimization of pharmaceutical formulation I: General procedure. *J. Pharm. Sci.*, Washigton, v. 62, p. 1165-1170, 1973.
- 136 SCHWARTZ, J. B., FLAMHOLZ, J. R., PRESS, R. H. Computer optimization of pharmaceutical formulations II: Application in troubleshooting. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 62, n. 9, p. 1518-1519, 1973.
- 137 SHEK, E., GHANI, M., JONES, R. E. Simplex search in optimization of capsule formulation. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 69, n. 10, p. 1135-1142, 1980.
- 138 SHINODA, K. The correlation between the dissolution state of nonionic surfactant and the type of dispersion stabilized with the surfactant. *J. Colloid Interface. Sci.*, New York, v. 24, p.4-9, 1967.
- 139 SHUMACHER, G. E. The bulk compounding technology of liquids and semi-solids. *Am. J. Hosp. Pharm.*, Washington, v. 26, p. 71-99, 1969.

-
- 140 SHUMACHER, G. E. Bulk technology. Some theoretical aspects of bulk compounding technology II. Suspensions. *Am. J. Hosp. Pharm.*, Washington, v. 26, p. 548-550, 1969.
- 141 SU, K. S. E. , CARSTENSEN, J. T. Nature of bonding in montmorillonite adsorbates II. Bonding as an ion dipole interaction. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 61, p. 420-424, 1972.
- 142 TINGSTAD, J. E. Physical stability testing of pharmaceuticals. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 53, p. 955-962, 1964.
- 143 TURAKKA, L., OJANEN, T., HENELL, U., KARJACHINEN, A. Parabens as antimicrobial preservatives in creams *Pharmazie*, Berlin, v. 43, p. 701-703, 1988.
- 144 UNITED States pharmacopeia 22 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 1990.
- 145 VAN ABBÉ, N. J., DIXON, H., HUGHES, O., WOODROFFE, R.S.C., The hygienic manufacture and preservative of toiletries and cosmetics. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, New York, v.21, p.719-800, 1971.
- 146 VAN DOORNE, H. , DUBOID, F. L.. The preservation of lanette wax cream (FNA). *Pharm. Weekbl.*, Amsterdam, v.2, p.19-24, 1980.
- 147 VAN DOORNE, H. Interactions between micro-organisms and components of pharmaceutical preparations. Thesis, Leiden. Apud: VAN DOORNER, H. Interactions between preservatives and pharmaceutical components. In DEYER, S. P., BAIRD, R. M., eds. *Guide to microbiological control in pharmaceuticals*. London: Ellis Horwood, 1990. p.274-291.
- 148 VAN DOORNER, H. Interactions between preservatives and pharmaceutical components. In: DEYER, S. P., BAIRD, R. M. eds. *Guide to microbiological control in pharmaceuticals*. London: Ellis Horwood, 1990. p.274-291.
- 149 VAN OOTEGHEM, M. La division des poudres en cachets et gelules. *J. Pharm. Belg.*, Brussels, v. 21, p. 73-85, 1966.
- 150 VAN OUDTSHOORN, M. C. B. , POTGIETER, F. J. The formulation and evaluation of two sulphadimidine suspensions. *Pharm. Weekbl.*, Amsterdam, v. 105, p. 909-1015, 1971.

- 151 VANHAECK, E., REMON, J.P., PIJCK, J., AERTS, R., HERMAN, J. A comparative study of the effectiveness of preservative in twelve antacid suspension. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, New York, v.13, p.1429-1446, 1987.
- 152 WALKER, C. W. , WELLS, J. I. Rheological synergism between ionic and nonionic cellulose gums. *Int. J. Pharm.*, London, v. 11, p. 309-322, 1982.
- 153 WILSON, R. G. , ECANOW, B. Powdered particle interactions: suspension flocculation and caking IV. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 53, p. 913-916, 1964.
- 154 WILSON, R. Physical stability of sulphaguanidine suspension. *J. Pharm. Pharmacol.*, London, v. 28, p. 298, 1976.
- 155 YABLONSKI, J. I. Strategies for cosmetic preservation. *Cosmet. Toiletries*, Oak Park, v. 92, n.3, p. 22-24, 26, 31, 1977.
- 156 YAMAGUCHI, M., ASAKA, Y., TANAKA, M., MITSUI, T., OHTA, S. Antimicrobial activity of butylparaben in relation to its solubilization behavior by nonionic surfactants. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, New York, v.33, p. 297-307, 1982.
- 157 ZATZ, J. L., LUE, R. Y. Effect of polyols on physical stability of suspensions containing nonionic surfactant. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, New York, v. 33, p. 149-155, 1982.
- 158 ZATZ, J. L. , LUE, R. Y. Flocculation of suspensions containing nonionic surfactants by sorbitol. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v.76, p. 157-160, 1987.
- 159 ZATZ, J. L. Physical stability of suspensions. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, New York, v. 36, p. 393-411, 1985.
- 160 ZOGRAFI, G., SCHOTT, H., SWARBRICH, J. Disperse systems in: OSOL, A. , HOOVER, J. E., eds., *Remington's pharmaceutical sciences*, 18. ed., Easton: Mack, 1990, p. 257-309.

RESUMO

Para o estudo de formulações da suspensão de benzoilmetronidazol recorreu-se a utilização de um planeamento estatístico dos ensaios. Este permitiu avaliar a pesquisa de maneira mais eficiente comparada ao método tradicional, onde o planeamento das experiências é conduzido estudando-se uma variável por vez, mantendo-se as outras constantes. A utilização do planeamento fatorial permitiu elucidar o efeito de diferentes fatores, individualmente ou sobre o ponto de vista das interações dos componentes da formulação da suspensão de benzoilmetronidazol. No trabalho foram utilizados o projeto fatorial fracionado quadrado greco-latino, onde se combinou 4 tipos de cada adjuvantes como, agentes tensoativos, agentes suspensores, poliois e conservantes obtendo-se 16 fórmulas. Por meio da análise de variância e a comparação das médias empregando o teste "t" de student selecionaram-se as melhores fórmulas. Por outro lado, para melhor compreensão das influências dos insumos na formulação procederam-se ensaios conforme o delineamento de meia fração de um projeto fatorial completo 2^4 . A análise dos resultados foi realizada com as variáveis independentes codificadas avaliando-se seus efeitos estimados. Para a verificar se a região experimental já continha as melhores condições foi empregado o planeamento fatorial de primeira ordem. Por meio da equação para o modelo linear representativo desta região explorada, conclui-se que seria necessário realizar mais ensaios para obtenção de um modelo quadrático, ou seja, encontrar a região ótima por meio do arranjo fatorial de segunda ordem. Com o ponto ótimo estabelecido, pode-se determinar quais são os valores de cada variável independente. Por meio do modelo que representa a região, pode-se prever as respostas quando se varia os fatores dentro de limite estabelecido. O modelo foi representado em forma de equação e gráfico. A aplicação de técnicas de otimização no planeamento de fórmulas ampliaram, portanto, as perspectivas de racionalizar processos de formulação.

ABSTRACT

For the study of formulations of benzoyl metronidazole suspension went over the experimental design. This method permitted to evaluate the reserchs in a more efficient way when compared to the classical one variable-at-a time strategy. The use of fatorial design permitted to explain the effect of different factors, either individually or regarding the interactions of the components of formulation of the benzoyl metronidazole suspension. In this work it was used the fractional desings graeco-latin square, in which four types of adjuvants were combined as surfactant agents, suspending agents, polyols and preservatives to obtain sixteen formulations. Through the analysis of variance and comparison of average through the "t" test of Student the more addequate formulation were selected. For a better comprehension of the influences of the adjuvants in the formulation experiments were conducted according to the delinegment of half-fraction of a complete factorial design 2^4 . The analysis of the results were done with independent variables coded evaluating their estimated effects. To certify wether the experimental region had already the best condictiones, the first order factorial design was used. By means of the equation for the representative linear model of the explored region, it was concluded that it would be necessary to do more experiments for the obtaintion of quadratic model, i.e. to locate the best region through thre factorial design of second order. With the optimum point could determine the best region for each dependent variable. Through the represented model, it is possible to foresee the answers to the factors when within the fixed limits. The model was represented in the form of equation and grafic. Therefore, the use of optimization techniques in the planning of formulations increase the perspectives in rationalizing formulations processes.