

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 19/05/2019.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CÂMPUS DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

DANILO FERNANDO RODRIGUES

ANÁLISE QUÍMICO-FARMACÊUTICA DE CLORIDRATO DE
CEFEPIMA EM PÓ LIOFILIZADO PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Processo FAPESP nº 2013/20017-5

Processo FAPESP (BEPE) nº 2015/01551-6

ARARAQUARA - SP

2017

DANILO FERNANDO RODRIGUES

ANÁLISE QUÍMICO-FARMACÊUTICA DE CLORIDRATO DE
CEFEPIMA EM PÓ LIOFILIZADO PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e
Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, da
Faculdade de Ciências Farmacêuticas, da UNESP,
como parte dos requisitos para obtenção do Título
de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Hérica Regina Nunes Salgado

ARARAQUARA - SP

2017

Ficha Catalográfica

Elaborada por Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

R696a

Rodrigues, Danilo Fernando

Análise químico-farmacêutica de cloridrato de cefepima em pó liofilizado para solução injetável / Danilo Fernando Rodrigues. – Araraquara, 2017.
298 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.
Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas.
Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos.

Orientadora: Hérica Regina Nunes Salgado.

1. CLAE. 2. Cloridrato de cefepima. 3. Controle de qualidade. 4. Ensaio microbiológico.
5. Espectrofotometria. 6. Estabilidade. 7. Métodos analíticos. 8. Produtos de degradação.
9. Validação. I. Salgado, Hérica Regina Nunes, orient. II. Título.

CAPES: 40300005

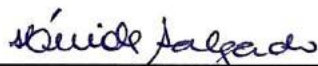
DANILO FERNANDO RODRIGUES

**“ANÁLISE QUÍMICO-FARMACÊUTICA DE CLORIDRATO DE CEFEPIMA EM PÓ LIOFILIZADO
PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL”**

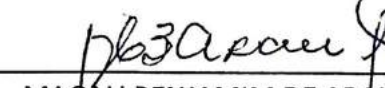
Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de Araraquara como requisito para a obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Araraquara, 19 de maio de 2017.

BANCA EXAMINADORA



HÉRIDA REGINA NUNES SALGADO



MAGALI BENJAMIM DE ARAUJO



SELMA GUTIERREZ ANTONIO



MARLUS CHORILLI



JEAN LEANDRO DOS SANTOS

*Dedico este trabalho à minha esposa,
Carla Rodrigues, que tanto me ajudou em
todos os momentos desta jornada e aos meus
pais por apoiarem e acreditarem sempre, pois
com Deus nada é impossível!*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a *Deus* e à *Nossa Senhora Aparecida* pela oportunidade de aprimoramento profissional e pessoal que pude obter ao longo deste período, por me concederem saúde, sabedoria nas escolhas dos melhores caminhos, coragem para acreditar, força para não desistir e proteção para me amparar;

À minha amada esposa *Carla Rodrigues* pelo apoio incondicional e constante incentivo, respeito e paciência por toda esta jornada, sem você tudo seria mais difícil;

Aos meus pais *Osvaldo* e *Marilda* que sempre primaram pela minha educação, agradeço por me oferecerem a oportunidade de estudar, me apoiando, incentivando e fazendo crescer cada dia mais, sou eternamente grato pelos vossos ensinamentos;

Aos meus queridos irmãos *Renan* e *Cristiane* por todo apoio e incentivo;

À minha avó *Maria* pelas orações e pensamentos positivos enviados;

Agradeço aos meus cunhados *Antonio* e *Klares*, e às minhas cunhadas *Kamila*, *Rosiane* e *Priscilla* por todo apoio e amizade;

Aos meus amados sobrinhos *Thiago*, *Maria Clara*, *Loise* e *Manuela* agradeço por toda alegria e carinho;

Aos meus sogros *Clarismino* e *Celia* que, apesar da distância, sempre estiveram presentes me apoiando e incentivando durante esta jornada;

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. *Hérída Regina Nunes Salgado* agradeço imensamente pela oportunidade de desenvolver este projeto juntos, pois sua competência científica e todo acompanhamento do trabalho, disponibilidade e generosidade reveladas ao longo destes anos, assim como pelas críticas, correções e sugestões feitas durante a orientação foram essenciais para o meu crescimento profissional;

Ao Prof. Dr. *Demian Rocha Ifa* “meu caro”, a gratidão é a memória do coração...

Agradeço pela valiosa contribuição e pela acolhida em seu laboratório no Canadá, por acreditar e ajudar na concretização deste projeto, pela parceria e amizade que vai além do lado profissional e por todo conhecimento compartilhado. Serei eternamente grato a você por tudo que fez por mim e pela minha esposa neste período;

Ao pessoal do Laboratório de Controle de Qualidade, *Caroline Magnani, Mariane Curbete, Livia Consorti, Felipe Fernandes, Ana Carolina Kogawa, Josilene Corrêa, Bianca de Marco, Mariana Teixeira, Camila Tavares, Rúbia Sversut e Ketylin Migliato* agradeço pelo acolhimento, por compartilhar vários momentos, pela amizade e conhecimento trocados durante a realização deste trabalho; em especial sou grato às minhas amigas *Eliane Tótolli e Tahisa Pedroso* pelo companheirismo, encorajamento e por estarem sempre presentes nesta jornada.

À técnica do Laboratório de Controle de Qualidade *Maria de Fátima Rodrigues Moreti* agradeço pela amizade, carinho e apoio durante estes anos de trabalho;

Ao meu amigo *Rogério* por ser um dos grandes incentivadores, por compartilhar os conhecimentos acadêmicos, profissionais e pessoais, pela parceria de sempre e por todos momentos vivenciados no Brasil e no Canadá juntamente com sua esposa *Taisa* e seu filho *Pedro*, por toda amizade e carinho prestados conosco;

Aos meus colegas *Amin, Rachel, Consuelo e Michelle* do Laboratório do Prof. Dr. *Demian Ifa*, o qual tive o prazer em conhecê-los no meu doutorado-sanduíche, agradeço pelos direcionamentos, pelas trocas de experiências e pelo auxílio técnico no manuseio do espectrômetro de massas.

À Prof^a. Dr^a. *Taís Maria Bauab* (FCFAr-UNESP) e ao Prof. Dr. *Álvaro José dos Santos Neto* (IQSC-USP) pela valiosa contribuição no meu exame de qualificação, tornando este trabalho melhor;

Agradeço aos membros da banca da defesa, Prof^ª. Dr^ª. *Magali Benjamim de Araújo* (FCF-UNIFAL), Prof^ª. Dr^ª. *Selma Gutierrez Antonio* (IQAr-UNESP), Prof. Dr. *Marlus Chorilli* (FCFAr-UNESP) e Prof. Dr. *Jean Leandro dos Santos* (FCFAr-UNESP), pela disponibilidade em contribuir e em tornar este trabalho ainda melhor;

À Coordenadora da Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas Prof^ª. Dr^ª. *Rosemeire Pietro*, agradeço pelos ensinamentos ministrados durante esta jornada;

Às funcionárias da secretaria de Pós-Graduação da FCFAr, *Cláudia, Daniela, Aniele e Christiane* pela atenção prestada em todos os anos e dedicação aos alunos da pós-graduação;

Aos funcionários da biblioteca da FCFAr, por todo apoio prestado durante estes anos, em especial a *Maria Irani*, pelas correções das referências do trabalho e pela confecção da ficha catalográfica;

À indústria farmacêutica *ABL – Antibióticos do Brasil Ltda.* (Cosmópolis - SP) pela gentil doação de cloridrato de cefepima substância química de referência e amostras (genérico) e do adjuvante L-arginina para utilização no desenvolvimento do projeto, somos gratos pela parceria e auxílio;

À *CAPES* e à *PROPG*, agradeço pelo apoio financeiro concedido;

Agradeço em especial à *FAPESP* (Processo nº 2013/20017-5) por todo auxílio financeiro ao projeto e pela bolsa *BEPE* da *FAPESP* (Processo nº 2015/01551-6) que me proporcionou a oportunidade de realizar o doutorado-sanduíche em Toronto no Canadá;

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara da Universidade Estadual Paulista - FCFAr/UNESP.

*“Lembremo-nos sempre: somente
quando se é capaz de compartilhar é que
se enriquece de verdade; tudo aquilo que
se compartilha se multiplica!”*

Papa Francisco



RESUMO

RESUMO

O surgimento de micro-organismos resistentes a um grande número de antimicrobianos clinicamente aprovados vem sendo cada vez mais frequente, o que limita as opções para o tratamento das infecções bacterianas. Como estratégia, fármacos com elevadas atividades antimicrobianas encontram-se em evidência. Destaca-se uma classe de antimicrobianos, a das cefalosporinas, tendo como quarta geração a cefepima (CEF), um produto semi-sintético que apresenta atividade contra várias bactérias Gram-positivas (ex. *Staphylococcus aureus* sensível à oxacilina) e Gram-negativas (ex. *Pseudomonas aeruginosa*) aeróbias. Seu mecanismo de ação é similar ao dos outros β -lactâmicos, ou seja, inibe a síntese da parede celular bacteriana, ligando-se a uma ou mais proteínas de ligação das penicilinas (*penicillin-binding proteins* - *PBPs*). Nesse contexto, pesquisas inovadoras envolvendo métodos analíticos são de fundamental importância e altamente relevantes para otimizar sua análise na indústria e garantir a qualidade do produto já comercializado. Análises qualitativas foram utilizadas e desenvolvidas durante o trabalho, a fim de promover a identificação do fármaco. Nesta pesquisa também foram desenvolvidos e validados métodos para quantificação de CEF em pó liofilizado para solução injetável. Dentre eles, o ensaio microbiológico pelo método turbidimétrico foi validado utilizando a cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, sendo linear na faixa de 36,0 a 81,0 $\mu\text{g/mL}$, onde apresentou potência de 102,46% e exatidão de 99,92%. O método por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi validado utilizando como fase móvel somente água purificada e etanol (45:55, v/v), no comprimento de onda (λ) de 258 nm, apresentando faixa linear de 10 a 70 $\mu\text{g/mL}$ e tempo de retenção (t_R) igual a 4,99 minutos. O doseamento apresentado por CLAE foi de 106,31% e a exatidão obteve um valor de 100,08%. Ensaios por espectrofotometria com absorção nas regiões do ultravioleta (UV) e do visível (VIS) tiveram seus parâmetros validados para a quantificação de CEF, empregando água purificada como solvente nos comprimentos de onda de 258 e 740 nm, respectivamente. O método por UV apresentou linearidade na faixa de 10 a 20 $\mu\text{g/mL}$, com teor de 103,81% e exatidão de 100,80%. O método no VIS foi desenvolvido em escala miniaturizada, diminuindo o uso de materiais e solventes, bem como o tempo de preparo das análises. A linearidade do método no VIS foi apresentada na faixa de 15 a 40 $\mu\text{g/mL}$ e o valor de teor obtido foi de 104,26%. Por fim, outro método desenvolvido e validado foi por espectrofotometria de absorção na região do infravermelho (IV), o qual não utilizou solventes orgânicos para os ensaios, característica importante na redução de resíduos. O teor de CEF obtido pelo método de IV foi de 103,86%, dentro da faixa linear apresentada nas concentrações de 0,2 a 0,6 mg/pastilha de brometo de potássio (KBr) e com valor resultante da exatidão de 100,83%. Análises de variância (ANOVA) foram realizadas para os métodos validados, comprovando a segurança e a confiabilidade dos resultados obtidos. Análises de espectrometria de massas foram realizadas para detectar possíveis produtos após a degradação de CEF. Estudos de estabilidade de curta e longa duração de CEF em pó liofilizado também foram realizados, resultando em perdas nas porcentagens dos teores, ficando dentro do limite descrito na literatura. Assim, todos os métodos desenvolvidos e validados neste trabalho são voltados à química verde e recomendados para o controle de qualidade de CEF em formulação farmacêutica.

Palavras-chave: CLAE. Cloridrato de cefepima. Controle de qualidade. Ensaio microbiológico. Espectrofotometria. Estabilidade. Métodos analíticos. Produtos de degradação. Validação.



ABSTRACT



ABSTRACT

The emergence of resistant microorganisms to a large number of clinically approved antimicrobials has been increasingly used, which limits the options for the treatment of bacterial infections. As a strategy, drugs with high antimicrobial activities are in evidence. Stands out a class of antimicrobial, the cephalosporins, having as fourth generation cefepime (CEF), a semi-synthetic product which has activity against various Gram-positive bacteria (e.g. oxacillin resistant *Staphylococcus aureus*) and Gram-negative (e.g. *Pseudomonas aeruginosa*) aerobic. Its mechanism of action is similar to other β -lactams, that mean, inhibits bacterial cell wall synthesis by binding to one or more penicillin-binding proteins - PBPs. In this context, innovative research involving analytical methods present fundamental importance and it is highly relevant to optimize its analysis in routine pharmaceutical industry and ensure quality of product already marketed. Qualitative analyzes were developed and used during work in order to promote the identification of the drug. In this research were also developed and validated methods for the quantification of CEF in lyophilized powder for solution for injection. Among them, microbiological test by turbidimetric method was validated using *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 strain, being linear in the range from 36.0 to 81.0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, which has potency of 102.46% and 99.92% accuracy. The method using high performance liquid chromatography (HPLC) was performed using as mobile phase only purified water and ethanol (45:55, v/v) at a wavelength (λ) of 258 nm, showed the linear range in 10 to 70 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ and retention time (t_R) equal to 4.99 minutes. The determination shown by HPLC was 106.31% and the accuracy obtained a value of 100.08%. Assays by spectrophotometry with absorption in the regions of ultraviolet (UV) and of visible (VIS) had their validated parameters to quantification CEF using purified water as solvent in the wavelengths of 258 and 740 nm, respectively. The method by UV showed linearity in the range of 10 to 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, with content of 103.81% and accuracy of 100.80%. The VIS method was developed on miniaturized scale, reducing the use of materials and solvents, as well as the time of prepare of the analyzes. The linearity of the VIS method was presented in the range of 15 to 40 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ and the content value obtained was of 104.26%. Lastly, another method was developed and validated by spectrophotometry with absorption in the region of infrared (IR), which did not use organic solvents for the analysis, important feature in reducing residues. The CEF content obtained by the IR method was 103.86%, within the linear range shown in concentrations of 0.2 to 0.6 mg/pellet of potassium bromide (KBr) and with value resulting of accuracy of 100.83%. Analysis of variance (ANOVA) were performed for validated methods, proving the safety and reliability of the results obtained. Analyses of mass spectrometry were performed to detect possible products after CEF degradation. The accelerated and long term stability studies of CEF in lyophilized powder also were performed, decreasing the percentages of the contents, but in according with the limit described in the literature. Thus, all the methods developed and validated in this work are turned on green chemistry and recommended for the quality control of CEF in pharmaceutical formulation.

Keywords: Analytical methods. Cefepime hydrochloride. Degradation products. HPLC. Microbiological assay. Quality control. Spectrophotometry. Stability. Validation.



LISTA DE FIGURAS

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Núcleo penicilina (a), cefalosporina (b) e cefamicina (c).....	52
Figura 2-	Estrutura química do cloridrato de cefepima (CAS 123171-59-5).....	53
Figura 3-	Variação do peso médio de vinte unidades de frascos-ampola de cefepima.....	88
Figura 4-	Ponto de fusão de CEF pó liofilizado para solução injetável antes (A) e após a fusão (B).....	90
Figura 5-	Perfil cromatográfico obtido de solução aquosa de CEF SQR e CEF amostra na concentração de 2,0 mg/mL. (a) Fase móvel: etanol : água (40:60, v/v). Agente revelador: vapores de iodo. $R_f = 0,53$. (b) Fase móvel: metanol : água (60:40, v/v). Agente revelador: vapores de iodo. $R_f = 0,40$. (P = SQR; A = amostra).....	94
Figura 6-	Perfil cromatográfico obtido de solução aquosa de CEF SQR e CEF amostra na concentração de 2,0 mg/mL e solução de excipiente. Fase móvel: etanol : água (40:60, v/v). Agente revelador: vapores de iodo. (P = SQR; A = amostra; E = excipiente).....	95
Figura 7-	Perfil cromatográfico obtido nas análises de degradação acelerada do CEF amostra em tempos de 0 h; 0,5 h; 1,5 h; 3 h; 24 h e 48 h. Fase móvel: etanol : água (40:60, v/v). Agente revelador: vapores de iodo. CEF = Amostra; F = Fotolítica (luz UVC 254 nm); N = Neutra (água, 60 °C); A = Ácida (HCl 0,1 M, 60 °C); B = Alcalina (NaOH 0,1 M, 60 °C); O = Oxidativa (H ₂ O ₂ 3%, 60 °C).....	98
Figura 8-	Sobreposição dos espectros de absorção obtidos na região do ultravioleta das soluções aquosas de CEF SQR 16 µg/mL (vermelho), CEF amostra 16 µg/mL (preto) e L-arginina 11,6 µg/mL (azul). (λ : 200-400 nm).....	101
Figura 9-	Comparação dos espectros de absorção obtidos na região do ultravioleta utilizando soluções de CEF amostra a 16 µg/mL preparadas com: (A) água; (B) tampão fosfato de potássio pH 6,0; (C) tampão fosfato de potássio pH 7,2; (D) tampão fosfato de potássio pH 8,0; (E) metanol; (F) etanol; (G) ácido clorídrico 0,1 M; (H) hidróxido de sódio 0,001 M. (λ : 200-400 nm).....	102
Figura 10-	Sobreposição dos espectros de absorção obtidos na região do VIS das soluções aquosas de CEF SQR 30 µg/mL (vermelho), CEF amostra 30 µg/mL (preto) e L-arginina 21,75 µg/mL (azul). (λ : 400-800 nm).....	108
Figura 11-	Espectro de absorção obtido na região do infravermelho de CEF SQR 0,4 mg/pastilha de KBr.....	111
Figura 12-	Espectro de absorção obtido na região do infravermelho de CEF amostra 0,4 mg/pastilha de KBr.....	111

Figura 13-	Sobreposição dos espectros de absorção obtidos na região do infravermelho em pastilhas de KBr de CEF SQR 0,4 mg/pastilha (vermelho), CEF amostra 0,4 mg/pastilha (preto) e L-arginina 0,29 mg/pastilha (azul).....	112
Figura 14-	Cromatogramas obtidos por CLAE para soluções de CEF SQR e CEF amostra (40 µg/mL) sobrepostos. Fase móvel: água : etanol (45:55, v/v). Fase estacionária: Luna C ₁₈ Phenomenex [®] (250 x 4,6 mm; 5 µm). Vazão: 0,5 mL/min. Comprimento de onda: 258 nm. Tempo de retenção: 4,99 minutos.....	116
Figura 15-	Espectros de absorção obtidos na região do ultravioleta das soluções aquosas de CEF SQR 16 µg/mL (vermelho), CEF amostra 16 µg/mL (preto) e L-arginina 11,6 µg/mL (azul) sobrepostos. (λ: 200-400 nm).....	125
Figura 16-	Curva de Ringbom preparada para análise de CEF SQR através do método de espectrofotometria com absorção na região do ultravioleta. (λ: 258 nm).....	127
Figura 17-	Curva analítica do método de espectrofotometria na região do ultravioleta para análise de CEF. (λ: 258 nm).....	129
Figura 18-	Ensaio realizado pelo método de espectrofotometria na região do VIS..	137
Figura 19-	Microplaca após a realização dos ensaios para a validação do método por espectrofotometria no VIS, utilizando as soluções aquosas de CEF SQR, CEF amostra e L-arginina.....	143
Figura 20-	Espectros de absorção obtidos na região do VIS das soluções aquosas de CEF SQR 30 µg/mL (vermelho), CEF amostra 30 µg/mL (preto) e L-arginina 21,75 µg/mL (azul) sobrepostos. (λ: 400-800 nm).....	143
Figura 21-	Curva de Ringbom preparada para análise de CEF SQR através do método de espectrofotometria com absorção na região do VIS. (λ: 740 nm).....	145
Figura 22-	Curva analítica do método de espectrofotometria na região do VIS para análise de CEF. (λ: 740 nm).....	147
Figura 23-	Espectros do CEF amostra (30 µg/mL) submetido às degradações ácida (HCl 0,1 M), alcalina (NaOH 0,001 M), neutra (água) e oxidativa (H ₂ O ₂ 0,05%) após 6 horas a 60 °C e fotolítica (luz UVC 254 nm) após 6 horas em temperatura ambiente (25 ± 2 °C). A) Preto: CEF amostra em tempo zero. B) Azul: fotolítica; Vermelho: neutra; Verde claro: ácida; Roxo: alcalina; Verde escuro: oxidativa; todas em 6 horas de degradação. (λ: 400-800 nm).....	149

Figura 24-	Etapas do método de espectrofotometria de absorção no infravermelho...	156
Figura 25-	Espectro de absorção obtido por espectrofotometria de infravermelho de CEF SQR 0,4 mg em pastilha de KBr com a região espectral selecionada para quantificação de CEF absorvida a $1815\text{-}1745\text{ cm}^{-1}$, atribuída ao grupo carbonila C=O do anel β -lactâmico.....	165
Figura 26-	Curva analítica do método de espectrofotometria de infravermelho para análise de CEF.....	167
Figura 27-	Avaliação da seletividade através da sobreposição dos espectros de absorção obtidos na região do infravermelho em pastilhas de KBr de CEF SQR 0,4 mg/pastilha (vermelho), CEF amostra 0,4 mg/pastilha (preto) e L-arginina 0,29 mg/pastilha (azul).....	168
Figura 28-	Espectros de CEF amostra (0,4 mg/pastilha) submetida à temperatura de $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ após 2 horas de análise. A) Preto: tempo zero; B) Azul: tempo 2 horas.....	170
Figura 29-	Espectros de CEF amostra (0,4 mg/pastilha) submetida à temperatura de $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ após 2 horas de análise. A) Preto: tempo zero; B) Verde: tempo 2 horas.....	170
Figura 30-	Gráfico de Pareto do planejamento fatorial 2^3 do nível inferior comparando os efeitos calculados das variáveis e suas interações aos critérios de referência na avaliação do parâmetro de robustez do método por espectrofotometria de infravermelho para determinação de CEF.....	175
Figura 31-	Gráfico de Pareto do planejamento fatorial 2^3 do nível superior comparando os efeitos calculados das variáveis e suas interações aos critérios de referência na avaliação do parâmetro de robustez do método por espectrofotometria de infravermelho para determinação de CEF.....	175
Figura 32-	Medidas relacionadas à determinação da assimetria do pico cromatográfico (A_s), calculada pela Equação 4.....	184
Figura 33-	Cromatograma de CEF SQR ($40\text{ }\mu\text{g/mL}$) obtido pelo método cromatográfico proposto. Fase móvel: água : etanol (45:55, v/v). Fase estacionária: Luna C ₁₈ Phenomenex [®] (250 x 4,6 mm; $5\text{ }\mu\text{m}$). Vazão: 0,5 mL/min. Comprimento de onda: 258 nm. Tempo de retenção: 4,99 minutos.....	191
Figura 34-	Sobreposição dos cromatogramas obtidos por CLAE das soluções de CEF SQR e CEF amostra ($40\text{ }\mu\text{g/mL}$). Fase móvel: água : etanol (45:55, v/v). Fase estacionária: Luna C ₁₈ Phenomenex [®] (250 x 4,6 mm; $5\text{ }\mu\text{m}$). Vazão: 0,5 mL/min. Comprimento de onda: 258 nm. Tempo de retenção: 4,99 minutos.....	191

Figura 35-	Cromatograma de CEF amostra (40 µg/mL) submetido à degradação ácida (HCl 0,1 M) após 6 horas a 60 °C. Fase móvel: água : etanol (45:55, v/v). Fase estacionária: Luna C ₁₈ Phenomenex® (250 x 4,6 mm; 5 µm). A) Preto: tempo zero; B) Azul: tempo 6 horas.....	193
Figura 36-	Cromatograma de CEF amostra (40 µg/mL) submetido à degradação alcalina (NaOH 0,001 M) após 6 horas a 60 °C. Fase móvel: água : etanol (45:55, v/v). Fase estacionária: Luna C ₁₈ Phenomenex® (250 x 4,6 mm; 5 µm). A) Preto: tempo zero; B) Azul: tempo 6 horas.....	194
Figura 37-	Cromatograma de CEF amostra (40 µg/mL) submetido à degradação neutra (água) após 6 horas a 60 °C. Fase móvel: água : etanol (45:55, v/v). Fase estacionária: Luna C ₁₈ Phenomenex® (250 x 4,6 mm; 5 µm). A) Preto: tempo zero; B) Azul: tempo 6 horas.....	194
Figura 38-	Cromatograma de CEF amostra (40 µg/mL) submetido à degradação fotolítica (luz UVC 254 nm) após 6 horas em temperatura ambiente (25 ± 2 °C). Fase móvel: água : etanol (45:55, v/v). Fase estacionária: Luna C ₁₈ Phenomenex® (250 x 4,6 mm; 5 µm). A) Preto: tempo zero; B) Azul: tempo 6 horas.....	195
Figura 39-	Cromatograma de CEF amostra (40 µg/mL) submetido à degradação oxidativa (H ₂ O ₂ 0,05%) após 6 horas a 60 °C. Fase móvel: água : etanol (45:55, v/v). Fase estacionária: Luna C ₁₈ Phenomenex® (250 x 4,6 mm; 5 µm). A) Preto: tempo zero; B) Azul: tempo 6 horas.....	195
Figura 40-	Curva analítica de CEF SQR obtida pelo método cromatográfico. Fase móvel: água : etanol (45:55, v/v). Fase estacionária: Luna C ₁₈ Phenomenex® (250 x 4,6 mm; 5 µm).....	197
Figura 41-	Etapas para o ensaio microbiológico pelo método turbidimétrico.....	209
Figura 42-	Ensaio microbiológico pelo método turbidimétrico desenvolvido e validado para a determinação da potência de CEF realizado nas concentrações de 36,0; 54,0 e 81,0 µg/mL. C-: Controle negativo; C+: Controle positivo.....	213
Figura 43-	Curvas analíticas das soluções de CEF SQR e CEF amostra, em concentrações de 36,0; 54,0 e 81,0 µg/mL obtidas pelo método turbidimétrico. P: Padrão; A: Amostra.....	214
Figura 44-	Análise de espectrometria de massas com ionização por <i>electrospray</i> (ESI-MS).....	225
Figura 45-	Espectro ESI(+)-MS obtido a partir da solução de CEF SQR (40 µg/mL).	225
Figura 46-	Espectro ESI(+)-MS obtido a partir da solução de CEF amostra (40 µg/mL).....	226

Figura 47-	Espectro ESI(+)-MS obtido a partir da solução de L-arginina (29 µg/mL).....	226
Figura 48-	Estrutura química do excipiente L-arginina (CAS 74-79-3).....	227
Figura 49-	Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS/MS do íon precursor de m/z 481 [CEF+H] ⁺	227
Figura 50-	Impureza derivada da degradação do CEF. NMP: <i>N</i> -metilpirrolidona.....	228
Figura 51-	Espectro ESI(+)-MS obtido a partir da solução de CEF amostra (40 µg/mL) submetida à degradação ácida (HCl 0,1 <i>M</i>) nos tempos 0; 0,5; 1,5; 3,0 e 6,0 horas a 60 °C. Branco: HCl 0,1 <i>M</i>	231
Figura 52-	Espectro ESI(+)-MS obtido a partir da solução de CEF amostra (40 µg/mL) submetida à degradação alcalina (NaOH 0,001 <i>M</i>) nos tempos 0; 0,5; 1,5; 3,0 e 6,0 horas a 60 °C. Branco: NaOH 0,001 <i>M</i>	232
Figura 53-	Espectro ESI(+)-MS obtido a partir da solução de CEF amostra (40 µg/mL) submetida à degradação neutra (água purificada) nos tempos 0; 0,5; 1,5; 3,0 e 6,0 horas a 60 °C. Branco: água purificada.....	233
Figura 54-	Espectro ESI(+)-MS obtido a partir da solução de CEF amostra (40 µg/mL) submetida à degradação fotolítica (água purificada) nos tempos 0; 0,5; 1,5; 3,0 e 6,0 horas a temperatura ambiente. Branco: água purificada.....	234
Figura 55-	Espectro ESI(+)-MS obtido a partir da solução de CEF amostra (40 µg/mL) submetida à degradação oxidativa (H ₂ O ₂ 0,05%) nos tempos 0; 0,5; 1,5; 3,0 e 6,0 horas a 60 °C. Branco: H ₂ O ₂ 0,05%.....	235
Figura 56-	Análise de espectrometria de massas com ionização por <i>Paper Spray</i> (PSI-MS).....	244
Figura 57-	Espectro PSI(+)-MS obtido a partir da solução de CEF SQR (2 mg/mL)..	245
Figura 58-	Espectro PSI(+)-MS obtido a partir da solução de CEF amostra (2 mg/mL).....	245
Figura 59-	Espectro PSI(+)-MS obtido a partir da solução de L-arginina (1,45 mg/mL).....	246
Figura 60-	Espectro PSI(+)-MS obtido a partir da solução de CEF amostra (2 mg/mL) submetida à degradação ácida (HCl 0,1 <i>M</i>) nos tempos 0; 0,5; 1,5; 3,0 e 6,0 horas a 60 °C. Branco: HCl 0,1 <i>M</i>	248

Figura 61-	Espectro PSI(+)-MS obtido a partir da solução de CEF amostra (2 mg/mL) submetida à degradação alcalina (NaOH 0,001 M) nos tempos 0; 0,5; 1,5; 3,0 e 6,0 horas a 60 °C. Branco: NaOH 0,001 M.....	249
Figura 62-	Espectro PSI(+)-MS obtido a partir da solução de CEF amostra (2 mg/mL) submetida à degradação neutra (água purificada) nos tempos 0; 0,5; 1,5; 3,0 e 6,0 horas a 60 °C. Branco: água purificada.....	250
Figura 63-	Espectro PSI(+)-MS obtido a partir da solução de CEF amostra (2 mg/mL) submetida à degradação fotolítica (água purificada) nos tempos 0; 0,5; 1,5; 3,0 e 6,0 horas a temperatura ambiente. Branco: água purificada.....	251
Figura 64-	Espectro PSI(+)-MS obtido a partir da solução de CEF amostra (2 mg/mL) submetida à degradação oxidativa (H ₂ O ₂ 0,05%) nos tempos 0; 0,5; 1,5; 3,0 e 6,0 horas a 60 °C. Branco: H ₂ O ₂ 0,05%.....	252
Figura 65-	Avaliação da cor apresentada por CEF amostra em pó liofilizado para solução injetável obtidas no estudo de estabilidade. CD: Curta duração; LD: Longa duração.....	261
Figura 66-	Teores de CEF amostra em pó para solução injetável dos estudos de estabilidade de curta e longa duração obtidos por CLAE e ensaio microbiológico por turbidimetria. CD: Curta duração; LD: Longa duração.....	263



LISTA DE TABELAS



LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Métodos de CLAE para a determinação de cefepima em matriz biológica.....	57
Tabela 2-	Métodos de CLAE para a determinação de cefepima em formas farmacêuticas.....	69
Tabela 3-	Análises qualitativas apresentadas nos compêndios oficiais para CEF amostra em pó liofilizado para solução injetável.....	75
Tabela 4-	Análises quantitativas apresentadas nos compêndios oficiais para CEF amostra em pó liofilizado para solução injetável.....	76
Tabela 5-	Peso médio de vinte unidades de frascos-ampola de cefepima.....	87
Tabela 6-	Valores obtidos do ponto de fusão de CEF SQR e CEF amostra.....	89
Tabela 7-	Teor de umidade da CEF pó liofilizado para solução injetável determinado por analisador de umidade por infravermelho.....	91
Tabela 8-	Estudo de degradação acelerada de CEF amostra em pó liofilizado para solução injetável por CCD.....	97
Tabela 9-	Alterações dos parâmetros utilizados por Patel e colaboradores (2011) na validação do método espectrofotométrico com absorção na região do VIS.....	105
Tabela 10-	Picos obtidos no espectro de absorção na região do infravermelho de CEF SQR.....	112
Tabela 11-	Determinação da curva de Ringbom de CEF por espectrofotometria no ultravioleta.....	120
Tabela 12-	Preparo das soluções para o teste de recuperação do método espectrofotométrico com absorção na região do ultravioleta.....	123
Tabela 13-	Variáveis selecionadas para avaliação da robustez no método por espectrofotometria com absorção na região do ultravioleta.....	124
Tabela 14-	Curva de Ringbom preparada para análise de CEF através do método de espectrofotometria com absorção na região do ultravioleta (λ : 258 nm)...	126
Tabela 15-	Doseamento obtido por espectrofotometria na região do ultravioleta para análise de CEF em pó liofilizado para solução injetável.....	128
Tabela 16-	Valores das absorvâncias referentes à análise de CEF SQR para a construção da curva analítica do método de espectrofotometria de ultravioleta (λ : 258 nm).....	129

Tabela 17-	Análise de variância dos valores de absorvâncias determinados utilizando o método de espectrofotometria na região do ultravioleta na obtenção da curva analítica de CEF SQR.....	130
Tabela 18-	Precisão interdias e entre analistas do método analítico para análise de CEF por espectrofotometria na região do ultravioleta.....	131
Tabela 19-	Comparação estatística por análise de variância (ANOVA) para precisão interdias do método de ultravioleta.....	131
Tabela 20-	Comparação estatística por análise de variância (ANOVA) para precisão entre analistas do método de ultravioleta.	131
Tabela 21-	Determinação da exatidão do método analítico para análise de CEF por espectrofotometria na região do ultravioleta.....	132
Tabela 22-	Valores apresentados para a determinação da robustez no método de espectrofotometria na região do ultravioleta.....	133
Tabela 23-	Volumes de cada solução utilizados nos ensaios quantitativos para a análise de CEF por espectrofotometria no VIS.....	137
Tabela 24-	Determinação da curva de Ringbom de CEF por espectrofotometria no VIS.....	138
Tabela 25-	Variáveis selecionadas para avaliação da robustez no método por espectrofotometria com absorção na região do VIS.....	142
Tabela 26-	Curva de Ringbom preparada para análise de CEF através do método de espectrofotometria com absorção na região do VIS (λ : 740 nm).....	144
Tabela 27-	Valores das absorvâncias referentes à análise de CEF SQR para a construção da curva analítica do método de espectrofotometria no VIS (λ : 740 nm).....	146
Tabela 28-	Análise de variância dos valores de absorvâncias determinados utilizando o método de espectrofotometria na região do VIS na obtenção da curva analítica de CEF SQR.....	147
Tabela 29-	Teor obtido por espectrofotometria na região do VIS para análise de CEF em pó liofilizado para solução injetável.....	148
Tabela 30-	Precisão interdias e entre analistas do método analítico para análise de CEF por espectrofotometria na região do VIS.....	150
Tabela 31-	Análise de variância (ANOVA) para precisão interdias do método de espectrofotometria no VIS.....	150
Tabela 32-	Análise de variância (ANOVA) para precisão entre analistas do método de espectrofotometria no VIS.....	150

Tabela 33-	Determinação da exatidão do método por espectrofotometria na região do VIS através da comparação de métodos.....	151
Tabela 34-	Análise de variância (ANOVA) para a exatidão do método de espectrofotometria no VIS por comparação de métodos.....	151
Tabela 35-	Teores apresentados para a determinação da robustez no método de espectrofotometria na região do VIS.....	152
Tabela 36-	Preparo das pastilhas para o teste de recuperação do método por espectrofotometria de infravermelho para determinação de CEF em pó liofilizado para solução injetável.....	160
Tabela 37-	Condições alteradas do parâmetro da robustez do método por espectrofotometria de infravermelho realizadas através dos planejamentos fatoriais 2^3 para os níveis superiores e inferiores.....	160
Tabela 38-	Matriz de planejamento de ensaios para as variações realizadas com o nível inferior (-1) do parâmetro de robustez pelo método de espectrofotometria de infravermelho.....	161
Tabela 39-	Matriz de planejamento de ensaios para as variações realizadas com o nível superior (1) do parâmetro de robustez pelo método de espectrofotometria de infravermelho.....	161
Tabela 40-	Elaboração dos coeficientes de contraste para o planejamento fatorial 2^3 .	163
Tabela 41-	Doseamento obtido por espectrofotometria de infravermelho desenvolvido para análise de CEF em pó liofilizado para solução injetável.....	166
Tabela 42-	Valores das absorvâncias referentes à análise de CEF SQR para a construção da curva analítica do método de espectrofotometria de infravermelho.....	166
Tabela 43-	Análise de variância dos valores de absorvâncias determinados utilizando o método de espectrofotometria de infravermelho na obtenção da curva analítica de CEF SQR.....	167
Tabela 44-	Precisão interdias e entre analistas do método de espectrofotometria de infravermelho para análise de CEF.....	171
Tabela 45-	Comparação estatística por análise de variância (ANOVA) para precisão interdias do método de espectrofotometria de infravermelho de CEF.....	172
Tabela 46-	Comparação estatística por análise de variância (ANOVA) para precisão entre analistas do método de espectrofotometria de infravermelho de CEF.....	172

Tabela 47-	Determinação da exatidão do método de espectrofotometria de infravermelho para análise de CEF.....	173
Tabela 48-	Valores dos efeitos obtidos por meio dos coeficientes de contraste dos planejamentos fatoriais 2^3 dos níveis inferiores e superiores utilizando as médias das absorvâncias dos ensaios.....	174
Tabela 49-	Comparação estatística por análise de variância (ANOVA) para robustez do método de espectrofotometria de infravermelho do planejamento 2^3 realizado para o nível inferior.....	176
Tabela 50-	Comparação estatística por análise de variância (ANOVA) para robustez do método de espectrofotometria de infravermelho do planejamento 2^3 realizado para o nível superior.....	176
Tabela 51-	Condições cromatográficas testadas para o desenvolvimento de método por CLAE para quantificação de CEF em pó liofilizado para solução injetável.....	181
Tabela 52-	Parâmetros estabelecidos para o método de CLAE nas análises de CEF SQR e CEF amostra em pó liofilizado para solução injetável.....	181
Tabela 53-	Preparo das soluções para o teste de recuperação do método por CLAE.....	187
Tabela 54-	Avaliação da robustez utilizando o planejamento experimental de Plackett-Burman.....	188
Tabela 55-	Variáveis selecionadas para avaliação da robustez no método de CLAE...	188
Tabela 56-	Teores obtidos por sistema cromatográfico desenvolvido para análise de CEF em pó liofilizado para solução injetável.....	192
Tabela 57-	Parâmetros avaliados na conformidade do sistema cromatográfico desenvolvido para análise de CEF em pó liofilizado para solução injetável.....	192
Tabela 58-	Valores das áreas referentes ao pico de CEF SQR para a construção da curva analítica de CLAE.....	196
Tabela 59-	Análise de variância dos valores de área determinados utilizando o método por CLAE na obtenção da curva analítica de CEF SQR.....	197
Tabela 60-	Precisão interdias e entre analistas do método analítico para determinação de CEF por CLAE.....	198
Tabela 61-	Comparação estatística por análise de variância (ANOVA) para precisão interdias.....	199

Tabela 62-	Comparação estatística por análise de variância (ANOVA) para precisão entre analistas.....	199
Tabela 63-	Determinação da exatidão do método analítico para análise de CEF por CLAE.....	199
Tabela 64-	Teores de cada variação obtidos no teste de Plackett-Burman.....	200
Tabela 65-	Parâmetros testados durante o desenvolvimento do ensaio microbiológico pelo método turbidimétrico.....	205
Tabela 66-	Parâmetros padronizados para ensaio microbiológico pelo método turbidimétrico na avaliação de CEF em pó liofilizado para solução injetável.....	206
Tabela 67-	Preparo das soluções para o teste de recuperação do método microbiológico por turbidimetria.....	211
Tabela 68-	Variáveis selecionadas para avaliação da robustez no método microbiológico turbidimétrico.....	212
Tabela 69-	Valores das absorvâncias de CEF SQR e CEF amostra para a determinação da curva analítica pelo método turbidimétrico.....	214
Tabela 70-	Análise estatística de variância das absorvâncias obtidas nas curvas analíticas do CEF pelo método turbidimétrico.....	215
Tabela 71-	Avaliação da precisão intermediária pelo método turbidimétrico para quantificação de CEF em pó liofilizado para solução injetável.....	216
Tabela 72-	Determinação da exatidão para análise de CEF por método turbidimétrico.....	216
Tabela 73-	Valores apresentados para a determinação da robustez no método microbiológico turbidimétrico.....	217
Tabela 74-	Relação dos picos apresentados na análise de ESI(+)-MS para a hidrólise de CEF em condição ácida.....	236
Tabela 75-	Relação dos picos apresentados na análise de ESI(+)-MS para a hidrólise de CEF em condição alcalina.....	237
Tabela 76-	Relação dos picos apresentados na análise de ESI(+)-MS para a hidrólise de CEF em condição neutra.....	237
Tabela 77-	Relação dos picos apresentados na análise de ESI(+)-MS de CEF para a condição fotolítica.....	238

Tabela 78-	Relação dos picos apresentados na análise de ESI(+)-MS de CEF para a condição oxidativa.....	238
Tabela 79-	Relação dos picos apresentados na análise de PSI(+)-MS para a hidrólise de CEF em condição ácida.....	253
Tabela 80-	Relação dos picos apresentados na análise de PSI(+)-MS para a hidrólise de CEF em condição alcalina.....	254
Tabela 81-	Relação dos picos apresentados na análise de PSI(+)-MS para a hidrólise de CEF em condição neutra.....	255
Tabela 82-	Relação dos picos apresentados na análise de PSI(+)-MS de CEF para a condição fotolítica.....	255
Tabela 83-	Relação dos picos apresentados na análise de PSI(+)-MS de CEF para a condição oxidativa.....	256
Tabela 84-	pH e teores de CEF em pó liofilizado para solução injetável apresentados nos estudos de estabilidade de curta e longa duração obtidos por CLAE e ensaio microbiológico pelo método turbidimétrico.....	262
Tabela 85-	Teores médios obtidos pelos métodos validados para a quantificação de CEF em pó liofilizado para solução injetável.....	266
Tabela 86-	Comparação estatística por análise de variância (ANOVA) entre os métodos utilizados na quantificação de CEF pó liofilizado para solução injetável.....	267
Tabela 87-	Análise comparativa pelo teste de Tukey dos teores médios obtidos pelos métodos validados para a quantificação de CEF em pó liofilizado para solução injetável.....	267



LISTA DE EQUAÇÕES



LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1-	Cálculo de desvio padrão relativo (DPR).....	79
Equação 2-	Cálculo de Lambert-Beer para obtenção da absorvância.....	118
Equação 3-	Cálculo da concentração de CEF em pó liofilizado para solução injetável...	121
Equação 4-	Valor percentual de CEF nas amostras.....	121
Equação 5-	Porcentagem de CEF recuperada na exatidão.....	124
Equação 6-	Limite de detecção.....	125
Equação 7-	Limite de quantificação.....	125
Equação 8-	Cálculo do efeito de referência para o parâmetro da robustez do método de infravermelho.....	162
Equação 9-	Cálculo do efeito médio para cada fator avaliado na robustez do método de infravermelho.....	164
Equação 10-	Assimetria do pico cromatográfico.....	184
Equação 11-	Fator de retenção do pico cromatográfico.....	185
Equação 12-	Número de pratos do pico cromatográfico.....	185
Equação 13-	Avaliação do efeito das alterações nos parâmetros de robustez por Plackett-Burman.....	189
Equação 14-	Cálculo da potência de CEF em pó liofilizado para solução injetável.....	210



LISTA DE QUADROS



LISTA DE QUADROS

Quadro 1-	Ensaio necessários para a validação do método analítico, segundo sua finalidade.....	78
------------------	--	----



LISTA DE ESQUEMAS



LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1-	Proposta para a fragmentação CID do íon de m/z 481, atribuído à cefepima $[\text{CEF}+\text{H}]^+$	229
Esquema 2-	Proposta dos produtos de degradação formados a partir da molécula de CEF (m/z 481) exposta nas condições ácida, alcalina, neutra, fotolítica e oxidativa obtidos por ESI(+)-MS.....	240



LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS



LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

amu	Unidades de massa atômica (<i>atomic mass unit</i>)
ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
As	Fator de assimetria
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
atm	Atmosfera (pressão)
BHI	<i>Brain-Heart Infusion</i>
BV	Balão volumétrico
CAS	<i>Chemical Abstracts Service</i>
CCD	Cromatografia em camada delgada
CIM	Concentração inibitória mínima
CEF	Cloridrato de cefepima
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CQ	Controle de qualidade
DAD	Detector de arranjo de diodos
DP	Desvio padrão
DPR	Desvio padrão relativo
EM	Espectrometria de massas
e.p.m.	Erro padrão da média
ESI-MS	Espectrometria de massas com ionização por electrospray (<i>Electrospray ionization mass spectrometry</i>)
FC	Fator de cauda
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
F_{cal}	Valor de F calculado
F_{tab}	Valor de F tabelado
FM	Fase móvel
GL	Graus de liberdade
IAL	Instituto Adolfo Lutz
ICH	<i>International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use</i>

IFA	Ingrediente farmacêutico ativo
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
ISO	<i>International Standard Organization</i>
IV	Infravermelho
k	Fator de retenção
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
N	Número de pratos
QM	Quadrados médios
PBPs	Proteínas de ligação das penicilinas (<i>Penicillin-Binding Proteins</i>)
psi	<i>Pounds per Square Inch</i> (pressão)
PSI-MS	Espectrometria de massas com ionização por <i>paper spray</i> (<i>Paper spray ionization mass spectrometry</i>)
r	Coefficiente de correlação
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
R_f	Fator de retenção
rpm	Rotação por minuto
SQ	Soma dos quadrados
SQR	Substância química de referência
t_R	Tempo de retenção
t_{tab}	Valor de <i>t</i> tabelado
UR	Umidade relativa
UV	Ultravioleta
VIS	Visível
λ_{max}	Comprimento de onda máximo absorvido



SUMÁRIO



SUMÁRIO

RESUMO	10
ABSTRACT.....	12
LISTA DE FIGURAS	14
LISTA DE TABELAS	21
LISTA DE EQUAÇÕES	28
LISTA DE QUADROS.....	30
LISTA DE ESQUEMAS	32
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	34
1. INTRODUÇÃO.....	46
2. OBJETIVOS.....	49
2.1. Objetivos gerais.....	49
2.2. Objetivos específicos.....	49
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	51
3.1. Cefalosporinas	51
3.2. Cloridrato de cefepima	53
3.3. Métodos analíticos.....	54
3.4. Validação de métodos analíticos	77
4. ASPECTOS GERAIS DO FÁRMACO	82
4.1. Substância química de referência (SQR)	83
4.2. Forma farmacêutica.....	83
4.3. Diluentes da forma farmacêutica.....	83
5. ANÁLISE QUALITATIVA	85
5.1. Características físicas	85
5.1.1. Método.....	85
5.1.2. Resultados e discussão	85
5.2. Determinação do peso médio	85
5.2.1. Material.....	85
5.2.2. Método.....	86
5.2.3. Resultados e discussão	86
5.3. Determinação do ponto de fusão	88
5.3.1. Material.....	89
5.3.2. Método.....	89
5.3.3. Resultados e discussão	89

5.4. Determinação da umidade	90
5.4.1. Material.....	90
5.4.2. Método.....	91
5.4.3. Resultados e discussão	91
5.5. Cromatografia em camada delgada (CCD)	92
5.5.1. Material.....	92
5.5.2. Método.....	92
5.5.2.1. Degradação acelerada.....	93
5.5.3. Resultados e discussão	94
5.5.3.1. Degradação acelerada.....	96
5.6. Espectrofotometria nas regiões do ultravioleta e visível.....	99
5.6.1. Espectrofotometria na região do ultravioleta	99
5.6.1.1. Material	99
5.6.1.2. Método.	100
5.6.1.2.1. Preparo da solução de CEF SQR.....	100
5.6.1.2.2. Preparo da solução de CEF amostra em pó liofilizado para solução injetável	100
5.6.1.2.3. Preparo da solução de L-arginina	101
5.6.1.3. Resultados e discussão.....	101
5.6.2. Espectrofotometria na região do visível	104
5.6.2.1. Material	106
5.6.2.2. Método.	106
5.6.2.2.1. Preparo da solução de CEF SQR.....	106
5.6.2.2.2. Preparo da solução de CEF amostra em pó liofilizado para solução injetável	107
5.6.2.2.3. Preparo da solução de L-arginina	107
5.6.2.2.4. Preparo da solução de carbonato de sódio 10%	107
5.6.2.2.5. Procedimento do método.....	107
5.6.2.3. Resultados e discussão.....	108
5.7. Espectrofotometria na região do infravermelho.....	109
5.7.1. Material.....	109
5.7.2. Método.....	110
5.7.2.1. Preparo das pastilhas de CEF SQR e CEF amostra	110
5.7.2.2. Preparo da pastilha de L-arginina	110
5.7.3. Resultados e discussão	110

5.8. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	114
5.8.1. Material.....	114
5.8.2. Método.....	114
5.8.2.1. Preparo da solução de CEF SQR	114
5.8.2.2. Preparo da solução de CEF amostra em pó liofilizado para solução injetável.....	115
5.8.2.3. Preparo da fase móvel	115
5.8.3. Resultados e discussão	115
6. ANÁLISE QUANTITATIVA	118
6.1. Espectrofotometria nas regiões do ultravioleta e visível.....	118
6.1.1. Espectrofotometria na região do ultravioleta.....	118
6.1.1.1. Material	119
6.1.1.2. Método	119
6.1.1.2.1. Preparo da solução de CEF SQR.....	119
6.1.1.2.2. Preparo da solução de CEF amostra em pó liofilizado para solução injetável	119
6.1.1.3. Curva de Ringbom	120
6.1.1.4. Obtenção da curva analítica	121
6.1.1.5. Cálculo do teor de CEF pó liofilizado para solução injetável.....	121
6.1.1.6. Validação do método desenvolvido para espectrofotometria na região do ultravioleta	122
6.1.1.6.1. Linearidade.....	122
6.1.1.6.2. Precisão	122
6.1.1.6.2.1. Repetibilidade (intradia).....	122
6.1.1.6.2.2. Precisão intermediária (interdias e entre analistas)	122
6.1.1.6.3. Exatidão.....	123
6.1.1.6.4. Robustez	124
6.1.1.6.5. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)	124
6.1.1.7. Resultados	125
6.1.1.7.1. Curva de Ringbom.....	126
6.1.1.7.2. Linearidade.....	127
6.1.1.7.3. Doseamento de CEF pó liofilizado para solução injetável.....	130
6.1.1.7.4. Precisão	130
6.1.1.7.5. Exatidão.....	132
6.1.1.7.6. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)	132

6.1.1.7.7. Robustez	132
6.1.1.8. Discussão	133
6.1.2. Espectrofotometria na região do visível	134
6.1.2.1. Material	135
6.1.2.2. Método	136
6.1.2.2.1. Preparo da solução de CEF SQR.....	136
6.1.2.2.2. Preparo da solução de CEF amostra em pó liofilizado para solução injetável	136
6.1.2.2.3. Procedimento do método.....	136
6.1.2.3. Curva de Ringbom	138
6.1.2.4. Obtenção da curva analítica	139
6.1.2.5. Cálculo do teor de CEF pó liofilizado para solução injetável.....	139
6.1.2.6. Validação do método desenvolvido para espectrofotometria na região do visível	139
6.1.2.6.1. Linearidade	139
6.1.2.6.2. Seletividade	139
6.1.2.6.3. Precisão	140
6.1.2.6.3.1. Repetibilidade (intradia)	140
6.1.2.6.3.2. Precisão intermediária (interdias e entre analistas)	140
6.1.2.6.4. Exatidão.....	141
6.1.2.6.5. Robustez	141
6.1.2.6.6. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)	142
6.1.2.7. Resultados	142
6.1.2.7.1. Curva de Ringbom.....	144
6.1.2.7.2. Linearidade.....	145
6.1.2.7.3. Doseamento de CEF pó liofilizado para solução injetável.....	148
6.1.2.7.4. Seletividade	148
6.1.2.7.5. Precisão	149
6.1.2.7.6. Exatidão.....	151
6.1.2.7.7. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)	152
6.1.2.7.8. Robustez	152
6.1.2.8. Discussão	152
6.2. Espectrofotometria na região do infravermelho.....	155
6.2.1. Material.....	155
6.2.2. Método	156

6.2.2.1. Preparo das pastilha de CEF SQR.....	157
6.2.2.2. Preparo da pastilha de CEF amostra em pó liofilizado para solução injetável	157
6.2.2.3. Preparo da pastilha de L-arginina	157
6.2.3. Obtenção da curva analítica.....	157
6.2.4. Cálculo do teor de CEF pó liofilizado para solução injetável	158
6.2.5. Validação do método de infravermelho.....	158
6.2.5.1. Linearidade.....	158
6.2.5.2. Seletividade	158
6.2.5.3. Precisão	159
6.2.5.3.1. Repetibilidade (intradia).....	159
6.2.5.3.2. Precisão intermediária (interdias e entre analistas)	159
6.2.5.4. Exatidão	159
6.2.5.5. Robustez.....	160
6.2.5.6. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).....	164
6.2.6. Resultados	164
6.2.6.1. Doseamento de CEF pó liofilizado para solução injetável	165
6.2.6.2. Linearidade.....	166
6.2.6.3. Seletividade	168
6.2.6.4. Precisão	171
6.2.6.5. Exatidão	172
6.2.6.6. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).....	173
6.2.6.7. Robustez.....	173
6.2.7. Discussão	176
6.3. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	179
6.3.1. Material	179
6.3.2. Método	180
6.3.2.1. Preparo da solução de CEF SQR	182
6.3.2.2. Preparo da solução de CEF amostra em pó liofilizado para solução injetável.....	182
6.3.2.3. Preparo da fase móvel	182
6.3.3. Cálculo do teor de CEF pó liofilizado para solução injetável	182
6.3.4. Validação do método desenvolvido para CLAE.....	183
6.3.4.1. Linearidade.....	183
6.3.4.2. Conformidade do sistema (<i>System suitability</i>).....	183

6.3.4.3. Seletividade.....	185
6.3.4.4. Precisão	186
6.3.4.4.1. Repetibilidade (intradia).....	186
6.3.4.4.2. Precisão intermediária (interdias e entre analistas)	186
6.3.4.5. Exatidão	186
6.3.4.6. Robustez.....	187
6.3.4.7. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).....	189
6.3.5. Resultados.....	190
6.3.5.1. Doseamento de CEF pó liofilizado para solução injetável	192
6.3.5.2. Conformidade do sistema (<i>System suitability</i>).....	192
6.3.5.3. Seletividade.....	193
6.3.5.4. Linearidade.....	196
6.3.5.5. Precisão	198
6.3.5.6. Exatidão	199
6.3.5.7. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).....	200
6.3.5.8. Robustez.....	200
6.3.6. Discussão	201
6.4. Ensaio microbiológico pelo método turbidimétrico.....	204
6.4.1. Ensaio preliminares para o estabelecimento dos parâmetros analíticos	205
6.4.2. Execução do ensaio	206
6.4.3. Material.....	206
6.4.4. Método.....	207
6.4.4.1. Preparo da solução de CEF SQR	207
6.4.4.2. Preparo da solução de CEF amostra em pó liofilizado para solução injetável	207
6.4.4.3. Preparo do meio de cultura	207
6.4.4.4. Preparo do inóculo	208
6.4.4.5. Ensaio.....	208
6.4.4.6. Obtenção da curva analítica	209
6.4.4.7. Determinação da potência de cloridrato de cefepima	210
6.4.4.8. Validação do método	210
6.4.4.8.1. Linearidade.....	210
6.4.4.8.2. Precisão	210
6.4.4.8.3. Exatidão.....	211
6.4.4.8.4. Robustez	211

6.4.5. Resultados.....	212
6.4.5.1. Linearidade.....	213
6.4.5.2. Precisão	215
6.4.5.3. Exatidão	216
6.4.5.4. Robustez.....	216
6.4.6. Discussão	217
7. TRATAMENTO DE RESÍDUOS	220
8. ESPECTROMETRIA DE MASSAS (EM).....	222
8.1. Espectrometria de massas com ionização por <i>Electrospray</i> (ESI-MS).....	222
8.1.1. Material.....	222
8.1.2. Método.....	223
8.1.2.1. Preparo da solução de CEF SQR	223
8.1.2.2. Preparo da solução de CEF amostra em pó liofilizado para solução injetável.....	223
8.1.2.3. Preparo da solução de L-arginina.....	223
8.1.2.4. Identificação das massas do CEF pela técnica de ESI-MS	223
8.1.2.5. Degradação acelerada	224
8.1.3. Resultados.....	224
8.1.3.1. Fragmentação de segunda ordem (MS/MS) da molécula de CEF.....	227
8.1.3.2. Degradação acelerada pela técnica de ESI-MS.....	230
8.2. Espectrometria de massas com ionização por <i>Paper Spray</i> (PSI-MS)	241
8.2.1. Material.....	242
8.2.2. Método.....	242
8.2.2.1. Preparo da solução de CEF SQR	242
8.2.2.2. Preparo da solução de CEF amostra em pó liofilizado para solução injetável.....	242
8.2.2.3. Preparo da solução de L-arginina.....	243
8.2.2.4. Identificação das massas de CEF pela técnica de PSI-MS	243
8.2.2.5. Degradação acelerada	243
8.2.3. Resultados.....	244
8.2.3.1. Degradação acelerada pela técnica de PSI-MS	247
8.3. Discussão das técnicas ESI-MS e PSI-MS.....	257
9. ESTUDOS DE ESTABILIDADE	259
9.1. Material e método.....	259

9.2. Resultados e discussão	260
10. ANÁLISE COMPARATIVA DOS MÉTODOS	266
10.1. Resultados e discussão	266
11. CONCLUSÕES.....	271
12. REFERÊNCIAS.....	274



INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

No decorrer das últimas décadas a resistência a antimicrobianos desencadeou uma crise de proporção global. Cada vez mais os micro-organismos encontram-se resistentes a um vasto número de antimicrobianos clinicamente aprovados e estão se espalhando com facilidade entre os continentes. Esse fenômeno representa uma ameaça à saúde pública, já que limita as opções para o tratamento das infecções bacterianas (SILVEIRA et al., 2006; WRIGHT, 2011). Ao lado disso, existem poucos novos agentes antimicrobianos surgindo no mercado (WRIGHT, 2011; BLAIR et al., 2015). Desta maneira, o desenvolvimento de novos fármacos, com a capacidade de contornar esses mecanismos de resistência, representa importante avanço na prática clínica.

Como estratégia no combate aos micro-organismos resistentes, fármacos com elevada atividade antimicrobiana e mecanismos de ação com uma maior potência encontram-se em evidência. Neste contexto, destaca-se uma classe de antimicrobianos, a das cefalosporinas, sendo que a sua quarta geração possui a cefepima. As cefalosporinas são antibióticos β -lactâmicos isoladas de espécies *Cephalosporium* ou preparadas semi-sinteticamente (ELKADY; ABBAS, 2011), nesse caso a cefepima trata-se de um produto semi-sintético, sendo ativa contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas aeróbias (SWEETMAN, 2009; EL-RABBAT et al., 2012).

A necessidade de se demonstrar a qualidade das análises químicas utilizadas pela indústria farmacêutica é fundamental durante e depois da fabricação de medicamentos, visto que dados analíticos não confiáveis podem gerar grandes problemas, entre eles, danos à saúde da população e prejuízos financeiros irrecuperáveis (LA ROCA et al., 2007). Com isso, a etapa da validação de métodos analíticos é indispensável, pois apresenta impacto direto sobre a qualidade desses dados.

É de suma importância para garantir a qualidade do produto final que o controle de qualidade na indústria farmacêutica aprimore seus métodos para identificação do teor de substância ativa e o estudo das características físicas e químicas do fármaco. Deste modo, o desenvolvimento de métodos para análise de cefepima em produtos farmacêuticos é essencial para garantir a eficácia e segurança deste medicamento. Soma-se a isso, o fato de se tratar de um medicamento cuja monografia não está inserida nas farmacopeias do Brasil (2010) e seu suplemento (2016), da Argentina (2009), da Espanha (2005) e de Portugal (2005), e por terem sido encontrados poucos artigos referentes a métodos analíticos para o controle de qualidade e estudos de estabilidade para a forma farmacêutica (FARMACOPEIA PORTUGUESA, 2005;

RFE, 2005; FARMACOPEA ARGENTINA, 2009; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2016).

Dessa forma, métodos analíticos necessitam ser desenvolvidos, validados e aprimorados para tal finalidade. Além disso, é extremamente importante investigar a estabilidade deste fármaco, bem como a presença ou formação de produtos de degradação, através de estudos de estabilidade das formulações. Assim sendo, este trabalho busca gerar informações relevantes para fortalecer o conhecimento científico e tecnológico.



CONCLUSÕES

11. CONCLUSÕES

- ✓ Em relação às análises qualitativas para a caracterização de CEF na forma farmacêutica, foram avaliadas as características organolépticas, ponto de fusão, teor de umidade, cromatografia em camada delgada, espectrofotometria com absorção nas regiões do ultravioleta, do visível e do infravermelho, espectrometria de massas e cromatografia líquida de alta eficiência; os métodos utilizados demonstraram ser adequados para a identificação.
- ✓ Neste trabalho foram desenvolvidos e validados cinco métodos para quantificação de CEF, tais como, espectrofotometria nas regiões do UV, do VIS e do IV, cromatografia líquida de alta eficiência e ensaio microbiológico por turbidimetria.
- ✓ O método espectrofotométrico na região do UV foi validado utilizando água purificada como solvente, com detecção em 258 nm, apresentando os parâmetros de validação adequados.
- ✓ O método de espectrofotometria no VIS foi preparado em escala miniaturizada, a fim de buscar sempre pela inovação e avanço de técnicas de determinação de fármacos, destacou-se também pelo fato do método não empregar solventes orgânicos nas análises. As soluções de CEF foram preparadas em água purificada como solvente e a detecção utilizada para os ensaios foi em 740 nm. Assim, houve diminuição dos materiais e solventes utilizados para a análise de CEF, bem como, redução significativa dos resíduos gerados pelas análises.
- ✓ Em relação ao método de espectrofotometria no IV médio ($4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$), para o preparo da pastilha foi utilizado somente o fármaco homogeneizado com o reagente KBr. No método, não foram empregados solventes orgânicos, fato que vem ao encontro dos objetivos deste trabalho na prospecção de métodos voltados à química verde.
- ✓ Quanto ao método de CLAE, destaca-se a não utilização de solventes tóxicos ou soluções tamponantes, empregando solventes como, água e etanol na constituição da fase móvel, condições significativas para a redução dos resíduos tóxicos, e também não foram reportados na literatura e em bancos de dados a utilização desta mistura para a análise de CEF.

- ✓ Foi validado o ensaio microbiológico por turbidimetria, para determinar a potência de CEF na preparação farmacêutica. O método foi desenvolvido utilizando água purificada para o preparo das soluções de CEF, a fim de verificar a potência de CEF frente ao *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 IAL 2082, resultando em um método apropriado para a proposta estabelecida. A vantagem deste método vai além da não utilização de solventes orgânicos tóxicos aos operadores; destaca-se principalmente a redução no tempo de análise com incubação de 4 horas, quando comparado aos demais métodos microbiológicos tradicionais, como o de difusão em ágar. Assim como o método de CLAE, não foram encontrados na literatura e em bancos de dados métodos que utilizassem ensaios microbiológicos por turbidimetria para a quantificação de CEF.
- ✓ Através do método de espectrometria de massas utilizando a ionização por *electrospray* - ESI(+)-MS, foram observados pelo menos 11 possíveis produtos de degradação formados a partir da molécula de CEF, quando expostas às condições de estresse ácida, alcalina, neutra, fotolítica e oxidativa. Assim, este estudo contribuiu para o conhecimento do comportamento da molécula nestes solventes, apresentando a proposta de rotas de degradação da molécula de CEF elaboradas mediante os resultados.
- ✓ Em relação aos estudos de estabilidade de curta e longa duração, a amostra de CEF apresentou perdas nas porcentagens de teores ao longo dos meses avaliados, quando exposta à temperatura e à UR, ficando dentro do limite preconizado pela literatura. Desta forma, destaca-se a importância do correto armazenamento do fármaco e do medicamento, visando manter o teor dentro dos limites preconizados durante seu prazo de validade.
- ✓ Desta maneira, conclui-se que todos os métodos desenvolvidos e validados neste trabalho poderão ser empregados nas análises de controle de qualidade, pois se apresentaram eficazes na quantificação de CEF em pó liofilizado para solução injetável. Outra importante característica é que os métodos foram planejados para serem ecologicamente corretos, não utilizando solventes tóxicos aos operadores, bem como, reduzindo os volumes utilizados e os impactos gerados ao meio ambiente.



REFERÊNCIAS



12. REFERÊNCIAS

- ABD EL-ATY, A.M.; GOUDAH, A.; MOUNEIR, S.M.; SUNWOO, Y.E.; JANG, J.H.; SHIN, J.G.; SHIM, J.H.; SHIMODA, M. Acute-phase response alters the disposition kinetics of cefepime following intravenous administration to rabbits. **Veterinary Research Communications**, v. 31, p. 67-75, 2007.
- ABDEL-FATTAH, L.; WESHAHY, S.A.; HASSAN, N.Y.; MOSTAFA, N.M.; BOLTIA, S.A. Development and validation of spectrophotometric, chemometric and high pressure liquid chromatographic methods for the determination of cefepime hydrochloride in the presence of its acid and alkaline degradation products. **International Journal of Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 3, n. 4, p. 86-96, 2013.
- ALBENDÍN, G.; LÓPEZ-LÓPEZ, J.A.; PINTO, J.J. Miniaturized and direct spectrophotometric multi-sample analysis of trace metals in natural waters. **Analytical Biochemistry**, v. 497, p. 18-23, 2016.
- ALI, S.M.; ELBASHIR, A.A.; ABOUL-ENEIN, H.Y. Spectroscopic methods for analysis of cephalosporins in pharmaceutical formulations. **World Journal of Analytical Chemistry**, v. 3, n. 1A, p. 21-32, 2015.
- AL-MOMANI, I.F. Spectrophotometric determination of selected cephalosporins in drug formulations using flow injection analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 25, p. 751-757, 2001.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**. 17. ed. Gaithersburg: AOAC, 2002. v. 1, p. xx.
- ARAS, C.; OZDAMAR, A.; OZTURK, R.; KARACORLU, M.; OZKAN, S. Intravitreal penetration of cefepime after systemic administration to humans. **Ophthalmologica**, v. 216, p. 261-264, 2002.
- ARMENTA, S.; GARRIGUES, S.; GUARDIA, M. Green analytical chemistry. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, p. 497-511, 2008.
- ASBEL, L.E.; LEVISON, M.E. Cephalosporins, carbapenems, and monobactams. **Infectious Diseases Clinics of North America**, v. 14, p. 435-447, 2000.
- ASLAN, M.M.; WEBSTER, N.A.; BYARD, C.L.; PEREIRA, M.B.; HAYES, C.M.; WIEDERKEHR, R.S.; MENDES, S.B. Low-loss optical waveguides for the near ultra-violet and visible spectral regions with Al₂O₃ thin films from atomic layer deposition. **Thin Solid Films**, v. 518, n. 17, p. 4935-4940, 2010.
- BARBARIN, N.; TILQUIN, B.; HOFFMANN, E. Radiosterilization of cefotaxime: investigation of potential degradation compounds by liquid chromatography–electrospray mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 929, p. 51-61, 2001.
- BARBOSA, A.M.J.; ARAUJO, T.A.; TRINDADE, M.A.G.; FERREIRA, V.S. Direct cefepime determination in human milk using solid mercury amalgam electrode manufactured with silver nanoparticles. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 681, p. 127-132, 2012.

BARIRIAN, N.; CHANTEUX, H.; VIAENE, E.; SERVAIS, H.; TULKENS, P.M. Stability and compatibility study of cefepime in comparison with ceftazidime for potential administration by continuous infusion under conditions pertinent to ambulatory treatment of cystic fibrosis patients and to administration in intensive care units. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 51, p. 651-658, 2003.

BARROS, C.B. Validação de métodos analíticos. **Biológico**, v. 64, n. 2, p. 175-177, 2002.

BASÁEZ, L.; VANÝSEK, P. Transport studies of β -lactam antibiotics and their degradation products across electrified water/oil interface. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 19, p. 183-192, 1999.

BEHIN, S.; PUNITHA, I.S.R.; KRISHNAN, S. Stability studies of cefepime hydrochloride by stability indicating RP-HPLC method. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology**, v. 6, n. 3, p. 2181-2186, 2013.

BERZAS, J.J.; GUIBERTEAU, C.; VILLASEÑOR, M.J.; RODRÍGUEZ, V. Development of a capillary gas chromatographic procedure for determining selective serotonin reuptake inhibitors: validation study and experimental design to evaluate the robustness of method. **Analytica Chimica Acta**, v. 519, p. 219-230, 2004.

BHATT, D.A.; PRAJAPATI, L.M.; JOSHI, A.K.; KHARODIY, M.L. Development and validation of spectrophotometry method for simultaneous estimation of cefepime hydrochloride and amikacin sulphate. **World Journal of Pharmaceutical Research**, v. 4, n. 5, p. 1482-1491, 2015.

BHAVANA, M.; RAMAMOHANAREDDY, T.; SANDHYA, M.; UMA MAHESWARA RAO, V. RP-HPLC method development and validation for simultaneous estimation of cefepime and tazobactam in marketed formulation. **International Journal of Pharmacy**, v. 3, n. 4, p. 837-842, 2013.

BLAIR, J.M.A.; WEBBER, M.A.; BAYLAY, A.J.; OGBOLU, D.O.; PIDDOCK, L.J.V. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. **Nature Reviews Microbiology**, v. 13, n. 1, p. 42-51, 2015.

BLIESNER, D.M. **Validating Chromatographic Methods: A Practical Guide**. Hoboken - New Jersey: John Wiley & Sons, 2006. p. 1.

BONAPACE, C.R.; WHITE, R.L.; FRIEDRICH, L.V.; NORCROSS, E.D.; BOSSO, J.A. Pharmacokinetics of cefepime in patients with thermal burn injury. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 43, n. 12, p. 2848-2854, 1999.

BONFILIO, R.; TARLEY, C.R.T.; PEREIRA, G.R.; SALGADO, H.R.N.; ARAÚJO, M.B. Multivariate optimization and validation of an analytical methodology by RP-HPLC for the determination of losartan potassium in capsules. **Talanta**, v. 80, p. 236-241, 2009.

BONFILIO, R.; ARAÚJO, M.B.; SALGADO, H.R.N. Development and validation of an UV-derivative spectrophotometric method for determination of glimepiride in tablets. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, p. 292-299, 2011.

BRANCH, S.K.; CASY, A.F.; LIPCZYNSKI, A.; OMINDE, M.A. Carbon-13 NMR of β -lactam antibiotics and related compounds. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 24, p. 465-479, 1986.

BP. BRITISH PHARMACOPOEIA. London: The Stationery Office, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Aprova o guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2 de junho 2003.

BRASIL Ministério da Saúde. Resolução RE nº 1, de 29 de julho de 2005. Guia para realização de estudos de estabilidade. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1 de agosto. 2005.

BREILH, D.; LAVALLEE, C.; FRATTA, A.; DUCINT, D.; CONY-MAKHOUL, P.; SAUX, M.C. Determination of cefepime and ceftazidime in human serum by high-performance liquid chromatography using an ultrafiltration for antibiotics serum extraction. **Journal of Chromatography B**, v. 734, p. 121-127, 1999.

BREILH, D.; SAUX, M.C.; DELAISEMENT, C.; FRATTA, A.; DUCINT, D.; VELLY, J.F.; COURAUD, L. Pharmacokinetic population study to describe cefepime lung concentrations. **Pulmonary Pharmacology and Therapeutics**, v. 14, p. 69-74, 2001.

BRUNTON, L.L.; CHABNER, B.A.; KNOLLMANN, B.B. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman**. 12. ed. São Paulo: AMGH, 2012. 2079p.

BU, W.; SEXTON, H.; FAN, X.; TORRES, P.; HOUSTON, P.; HEYMAN, I.; LIU, L. The novel sensitive and high throughput determination of cefepime in mouse plasma by SCX-LC/MS/MS method following off-line μ elution 96-well solid-phase extraction to support systemic antibiotic programs. **Journal of Chromatography B**, v. 878, n. 19, p. 1623-1628, 2010.

BUGAY, D.E.; NEWMAN, A.W.; FINDLAY, W.P. Quantitation of cefepime $\cdot$ 2HCl dihydrate in cefepime $\cdot$ 2HCl monohydrate by diffuse reflectance IR and powder X-ray diffraction techniques. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 15, p. 49-61, 1996.

BUGNON, D.; GIANNONI, E.; MAJCHERCZYK, P.; GLAUSER, M.P.; MOREILLON, P. Pitfalls in cefepime titration from human plasma: plasma- and temperature-related drug degradation in vitro. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 11, p. 3654-3656, 2002.

BURGESS, D.S.; HASTINGS, R.W.; HARDIN, T.C. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cefepime administered by intermittent and continuous infusion. **Clinical Therapeutics**, v. 22, n. 1, p. 66-75, 2000.

CABRINI, G.L. **Aplicação de espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear na detecção e caracterização de intermediários chave de reações orgânicas**. 2007. 267 f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica), Universidade Estadual de Campinas, 2007.

- CALAHORRA, B.; CAMPANERO, M.A.; SÁDABA, B.; AZANZA, J.R. Rapid high-performance liquid chromatographic determination of cefepime in human plasma. **Biomedical Chromatography**, v. 13, p. 272-275, 1999.
- CALLEGARI-JACQUES, S.M. **Bioestatística: Princípios e Aplicações**. Porto Alegre: Artmed editora, 2009. 253 p.
- CARGNELUTTI FILHO, A.; STORCK, L. Estatísticas de avaliação da precisão experimental em ensaios de cultivares de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 1, p. 17-24, 2007.
- CAZEDEY, E.C.L.; PEREZ, D.P.; PEREZ, J.P.; SALGADO, H.R.N. LC Assay for ciprofloxacin hydrochloride ophthalmic solution. **Chromatographia Supplement**, v. 69, p. S241-S244, 2009.
- CAZEDEY, E.C.L.; OTHMAN, A.; GARG, S.; SALGADO, H.R.N. A validated stability-indicating LC method for orbifloxacin in the presence of degradation products. **Current Pharmaceutical Analysis**, v. 7, n. 3, p. 1-6, 2011.
- CAZEDEY, E.C.L.; SALGADO, H.R.N. Spectrophotometric determination of ciprofloxacin hydrochloride in ophthalmic solution. **Advances in Analytical Chemistry**, v. 2, p. 74-79, 2012.
- CAZEDEY, E.C.L.; SALGADO, H.R.N. Development and validation of UV spectrophotometric method for orbifloxacin assay and dissolution studies. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, p. 457-465, 2014.
- CAZORLA-REYES, R.; ROMERO-GONZÁLEZ, R.; FRENICH, A.G.; RODRÍGUEZ MARESCA, M.A.; MARTÍNEZ VIDAL, J.L. Simultaneous analysis of antibiotics in biological samples by ultra high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 89, p. 203-212, 2014.
- CHAFLE, D.M. Development and validation of spectrophotometric method for the estimation of cefepime in bulk and dosage form. **Der Pharma Chemica**, v. 5, n. 2, p. 127-132, 2013.
- CHAN, C.Y.; CHAN, K.; FRENCH, G.L. Rapid high performance liquid chromatographic assay of cephalosporins in biological fluids. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**, v. 18, n. 4, p. 537-545, 1986.
- CHANG, Y.L.; CHOU, M.H.; LIN, M.F.; CHEN, C.F.; TSAI, T.H. Determination and pharmacokinetic study of unbound cefepime in rat bile by liquid chromatography with on-line microdialysis. **Journal of Chromatography A**, v. 914, p. 77-82, 2001a.
- CHANG, Y.L.; CHOU, M.H.; LIN, M.F.; CHEN, C.F.; TSAI, T.H. Effect of cyclosporine, a P-glycoprotein inhibitor, on the pharmacokinetics of cefepime in rat blood and brain A microdialysis study. **Life Sciences**, v. 69, p. 191-199, 2001b.
- CHAPUIS, T.M.; GIANNONI, E.; MAJCHERCZYK, P.A.; CHIOLÉRO, R.; SCHALLER, M.D.; BERGER, M.M.; BOLAY, S.; DÉCOSTERD, L.A.; BUGNON, D.; MOREILLON, P. Prospective monitoring of cefepime in intensive care unit adult patients. **Critical Care**, v. 14, n. 2, p. 1-10 (R51), 2010.

CHAVALA, A.K.; BANNIMATH, G.; SAMA, N.S.; PRASANTH, K.V.R. Spectrophotometric determination some cephalosporins containing amino group using 1,2-naphthaquinone-4-sulfonic acid sodium in pharmaceutical dosage form. **International Journal of Pharmaceutical Technology**, v. 3, p. 1750-1767, 2011.

CHEATHAM, S.C.; SHEA, K.M.; HEALY, D.P.; HUMPHREY, M.L.; FLEMING, M.R.; WACK, M.F.; SMITH, D.W.; SOWINSKI, K.M.; KAYS, M.B. Steady-state pharmacokinetics and pharmacodynamics of cefepime administered by prolonged infusion in hospitalised patients. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 37, p. 46-50, 2011.

CHEN, Y.; ZHANG, Y. Determination of cefepime in serum by solid phase extraction HPLC. **Zhongguo Yiyuan Yaoxue Zazhi**, v. 26, n. 4, p. 420-422, 2006.

CHEN, H.; LIN, Y.; DONG, P.; WEN, S.; HAN, M. Development of a HPLC method for determination of cefepime in plasma and its clinical application. **Zhongguo Yaoyue Zazhi**, v. 44, n. 2, p. 143-146, 2009.

CHERTI, N.; KINOWSKI, J.; LEFRANT, J.Y.; BRESSOLLE, F. High-performance liquid chromatographic determination of cefepime in human plasma and in urine and dialysis fluid using a column-switching technique. **Journal of Chromatography B**, v. 754, p. 377-386, 2001.

CHIERENTIN, L.; SALGADO, H.R.N. Performance characteristics of UV and visible spectrophotometry methods for quantitative determination norfloxacin in tablets. **Journal of Scientific Research**, v. 6, p. 531-541, 2014.

CHIERENTIN, L.; SALGADO, H.R.N. Development and validation of a rapid turbidimetric assay to determine the potency of norfloxacin in tablets. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 51, p. 629-635, 2015.

CHONG, X.M.; HU, C.Q. Compilation of an ESI-MS library of β -lactam antibiotics for rapid identification of drugs. **Chromatographia**, v. 68, p. 759-766, 2008.

COLIN, P.; BOCK, L.; T'JOLLYN, H.; BOUSSERY, K.; BOCXLAER, J.V. Development and validation of a fast and uniform approach to quantify β -lactam antibiotics in human plasma by solid phase extraction-liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. **Talanta**, v. 103, p. 285-293, 2013.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: Editora da UNICAMP, 2006. 453 p.

CONSORTTI, L.P.; SALGADO, H.R.N. Green method for quantification of sodium cefotaxime in lyophilized powder by infrared spectroscopy. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Emerging Drugs**, v. 5, n. 1, p. 2-6, 2017.

CORRÊA, J.C.R.; REICHMAN, C.; VIANNA SOARES, C.D.; SALGADO, H.R.N. Performance characteristics of high performance liquid chromatography, first order derivative UV spectrophotometry and bioassay for fluconazole determination in capsules. **Química Nova**, v. 35, n. 3, p. 530-534, 2012.

- CORRÊA, J.C.R.; SALGADO, H.R.N. A platform for designing quantitative infrared spectrophotometric method for drugs and pharmaceuticals analysis: a rediscover for an ecological and safer technique in the routine quality control laboratories. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, p. 1, 2014.
- CORRÊA, J.C.R.; SERRA, C.H.R.; SALGADO, H.R.N. Development and validation of first derivative spectrophotometric method for quantification of darunavir in tablets. **British Journal of Pharmaceutical Research**, v. 4, p. 722-730, 2014.
- CURBETE, M.M.; SALGADO, H.R.N. Rapid turbidimetric assay for quantification of fusidic acid in a dermatological cream. **Talanta (Oxford)**, v. 153, p. 51-56, 2016.
- DĄBROWSKA, M.; STAREK, M.; KRZEK, J.; PAPP, E.; KRÓL, P. A degradation study of cefepime hydrochloride in solutions under various stress conditions by TLC–densitometry. **Biomedical Chromatography**, v. 29, p. 388-395, 2015.
- DE MARCO, B.A.; SALGADO, H.R.N. Development and validation of an innovative method for the determination of cefadroxil monohydrate in capsules. **Physical Chemistry**, v. 6, n. 3, p. 67-74, 2016.
- DEGANI, A.L.G.; CASS, Q.B.; VIEIRA, P.C. Cromatografia: um breve ensaio. **Cromatografia**, v. 7, p. 21-25, 1998.
- DELATTRE, I.K.; MUSUAMBA, F.T.; VERBEECK, R.K.; DUGERNIER, T.; SPAPEN, H.; LATERRE, P.F.; WITTEBOLE, X.; CUMPS, J.; TACCONE, F.S.; VINCENT, J.L.; JACOBS, F.; WALLEMACQ, P.E. Empirical models for dosage optimization of four β -lactams in critically ill septic patients based on therapeutic drug monitoring of amikacin. **Clinical Biochemistry**, v. 43, n. 6, p. 589-598, 2010.
- DENOOZ, R.; CHARLIER, C. Simultaneous determination of five β -lactam antibiotics (cefepim, ceftazidim, cefuroxim, meropenem and piperacillin) in human plasma by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. **Journal of Chromatography B**, v. 864, p. 161-167, 2008.
- DESHPANDE, A.D.; BAHETI, K.G.; CHATTERJEE, N.R. Degradation of β -lactam antibiotics. **Current Science**, v. 87, n. 12, p. 1684-1695, 2004.
- DHARUMAN, J.G.; VASUDEVAN, M. Reliability-targeted HPLC–UV method validation — A protocol enrichment perspective. **Journal of Separation Science**, v. 37, p. 228-236, 2014.
- DIEKEMA, D.J.; PFALLER, M.A.; JONES, R.N.; DOERN, G.V.; WINOKUR, P.L.; GALES, A.C.; SADER, H.S.; KUGLER, K.; BEACH, M. Survey of bloodstream infections due to gram-negative bacilli: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, and Latin America for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997. **Clinical Infectious Diseases**, v. 29, n. 3, p. 595-607, 1999.
- DOĞAN, A.; NEMUTLU, E.; ÖZEK, M.A.; EROĞLU, H.; KIR, S.; BEKSAÇ, M.S. The pharmacokinetic profiles of pre-operative prophylactic cefepime application in pregnant and non-pregnant women undergoing surgical interventions using a fully validated liquid chromatographic method. **Chromatographia**, v. 76, p. 1513-1519, 2013.

DUAN, W.; XIA, D.; GUO, T. Determination of cefepime in human plasma by HPLC. **Zhongguo Yaofang**, v. 19, n. 29, p. 2262-2264, 2008.

ELAZAZY, M.S.; SHALABY, A. Validated spectrophotometric assay of cefepime hydrochloride and cefuroxime sodium using a tetrazolium salt. **E-Journal of Chemistry**, v. 9, n. 4, p. 2261-2267, 2012.

ELKADY, E.F.; ABBAS, S.S. Development and validation of a reversed-phase column liquid chromatographic method for the determination of five cephalosporins in pharmaceutical preparations. **Journal of AOAC International**, v. 94, n. 5, p. 1440-1446, 2011.

EL-RABBAT, N.A.; ABDEL-WADOOD, H.M.; SAYED, M.; MOUSA, H.S. High-performance liquid chromatographic determination and pharmacokinetic study of cefepime in goat plasma and milk after pre-column derivatization with Hg(I). **Journal of Separation Science**, v. 33, p. 2599-2609, 2010.

EL-RABBAT, N.A.; ABDEL-WADOOD, H.M.; SAYED, M.; MOUSA, H.S. Spectrophotometric analysis of cefepime through its Hg(I) complex. **Bulletin of Pharmaceutical Science**, v. 35, p. 55-65, 2012.

EL-SHABOURY, S.R.; SALEH, G.A. MOHAMED, F.A.; RAGEH, A.H. Analysis of cephalosporin antibiotics. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 45, p. 1-19, 2007.

EL-HEWAITY, M. Influence of flunixin on the disposition kinetic of cefepime in goats. **Advances in Pharmacological Sciences**, v. 2014, p. 1-5, 2014.

EP. EUROPEAN PHARMACOPOEIA. 7th ed. Council of Europe, 2011.

ESMERINO, L.A.; PEREIRA, A.V.; ADAMOWICZ, T.; BORGES, D.M.; TALACIMON, E.A.; SCHELESKY, M.E. Método microbiológico para determinação da potência de antimicrobianos. **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 10, p. 53-60, 2004.

EVAGELOU, V.; TSANTILI-KAKOULIDOU, A.; KOUPPARIS, M. Determination of the dissociation constants of the cephalosporins cefepime and cefpirome using UV spectrometry and pH potentiometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 31, n. 6, p. 1119-1128, 2003.

FARINA, A.; PORRÀ, R.; COTICHINI, V.; DOLDO, A. Stability of reconstituted solutions ceftazidime for injections: na HPLC and CE approach. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 20, p. 521-530, 1999.

FARMACOPEA Argentina. 8. ed. Buenos Aires: Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (A.N.M.A.T), 2009.

FARMACOPEIA Brasileira. 5. ed. Brasília, DF: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010.

FARMACOPEIA Brasileira. Primeiro Suplemento. 5. ed. Brasília, DF: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2016.

FARMACOPEIA Portuguesa. 8. ed. Lisboa: Imprensa Nacional, 2005.

FARTHING, C.; FARTHING, D.; BROPHY, D.F.; LARUS, T.; MAYNOR, L.; FAKHRY, I.; GEHR, T.W.B. High-performance liquid chromatographic determination of cefepime and cefazolin in human plasma and dialysate. **Chromatographia**, v. 67, p. 365-368, 2008.

FDA. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Validation of chromatographic methods**. Washington: Center of Drug Evaluation and Research, 1994.

FDA. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Guidance for Industry: **Analytical Procedures and Methods Validation**. Rockville: Center for Drug Evaluation and Research and Center for Biologics Evaluation and Research, 2000.

FERDOUS, S.; SULTAN, M.Z.; BASHAR, T.; RAHMAN, A.; ISLAM, M.S. In vitro and in vivo studies of drug-drug interaction between metformin and cefepime. **Pharmaceutica Analytica Acta**, v. 6, n. 348, p. 1-5, 2015.

FIGUEIREDO, A.L. **Análise químico-farmacêutica de preparações injetáveis de aztreonam**. 2014. 142 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2014.

FIORENTINO, F.A.M.; SALGADO, H.R.N. Development and validation of a UV-spectrophotometric method for determination of flucloxacillin sodium in capsules. **Current Pharmaceutical Analysis**, v. 8, p. 101-104, 2012.

FRAU, J.; COLL, M.; DONOSO, J.; MUÑOZ, F.; VILANOVA, B; GARCÍA-BLANCO, F. Alkaline and acidic hydrolysis of the β -lactam ring. **Electronic Journal of Theoretical Chemistry**, v. 2, n. 1, p. 56-65, 1997.

FUKUTSU, N.; KAWASAKI, T.; SAITO, K.; NAKAZAWA, H. Application of high-performance liquid chromatography hyphenated techniques for identification of degradation products of cefpodoxime proxetil. **Journal of Chromatography A**, v. 1129, p. 153-159, 2006.

FUBARA, J.O.; NOTARI, R.E. Influence of pH, temperature and buffers on cefepime degradation kinetics and stability predictions in aqueous solutions. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 87, n. 12, p. 1572-1576, 1998.

GARDNER, S.Y.; PAPICH, M.G. Comparison of cefepime pharmacokinetics in neonatal foals and adult dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 24, p. 187-192, 2001.

GOUDAH, A.; MOUNEIR, S.M.; SHIM, J.H.; ABD EL-ATY, A.M. Influence of endotoxin induced fever on the pharmacokinetics of intramuscularly administered cefepime in rabbits. **Journal of Veterinary Science**, v. 2, p. 151-155, 2006.

GRAHAM, P.L. **Pharmaceutical Chemistry - An Introduction to Medicinal Chemistry**. London: British Library, 1995. p. 201-202.

GUO, Y.; YUE, Z. Determination of cefepime content in cefepime dihydrochloride and arginine by HPLC. **Heilongjiang Yiyao**, v. 19, n. 5, p. 338, 2006.

HALLIGAN, N.G.; BROWN, R.F.; SPRY, D.O.; BLASZCZAK, L.C. Radical rearrangement: a strategy for conversion of cephalosporin to 1-carba(dethia)cephalosporin. **Tetrahedron**, v. 56, n. 31, p. 5679-5685, 2000.

HARRIS, D.C. **Análise química quantitativa**. 5 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2001. p. 435-448.

HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E.; GILMAN, A.G. **Goodman & Gilman's: The pharmacological basis of therapeutics**. 10th ed. New York: McGraw-Hill, 2001, 2148p.

HEWITT, W. **Microbiological assay for pharmaceutical analysis: a rational approach**. Boca Raton: Interpharm/CRC, 2004. p. 18-21.

HIGUCHI, K.; IKAWA, K.; IKEDA, K.; OHGE, H.; SUEDA, T.; HOUCHI, H.; MORIKAWA, N. Peritoneal pharmacokinetics of cefepime in laparotomy patients with inflammatory bowel disease, and dosage considerations for surgical intra-abdominal infections based on pharmacodynamic assessment. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 14, p. 110-116, 2008.

HIRSCH, R.; TERNES, T.; HABERER, K.; KRATZB, K-L., Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. **Science of the Total Environment**, v. 225, p.109-118, 1999.

HIRTE, K.; SEIWERT, B.; SCHÜÜRMANN, G.; REEMTSMA, T. New hydrolysis products of the beta-lactam antibiotic amoxicillin, their pH-dependent formation and search in municipal wastewater. **Water Research**, v. 88, p. 880-888, 2016.

HOSNY, M.M. Development of simple green spectrophotometric method for determination of cefoperazone sodium and cefepime hydrochloride in bulk, pharmaceutical dosage forms and human urine. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 7, n. 1, p. 145-150, 2014.

HU, J.; XIE, L.; XIAO, D.; FAN, H.; WANG, R.; QIAN, W.; LIU, X. HPLC method for the determination of cefepime in human plasma and its pharmacokinetics. **Zhongguo Xiandai Yingyong Yaxue**, v. 24, n. 1, p. 53-56, 2007.

HUANG, H.; HUANG, S.; ZHU, P.; XI, X. Continuous versus intermittent infusion of cefepime in neurosurgical patients with post-operative intracranial infections. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 43, p. 68-72, 2014.

IBRAHIM, R.B.; LIU, C.Y.; CRONIN, S.M.; MURPHY, B.C.; CHA, R.; SWERDLOW, P.; AVILA, T.; SMITH, S.T.; LEWIS, R.A.; EDWARDS, D.J. Influence of plasma exchange on the disposition of the fourth generation cephalosporin cefepime. **Journal of Oncology Pharmacy Practice**, v. 15, n. 4, p. 217-222, 2009.

ICH – International Conference on Harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. **Stability testing of new drug substances and products Q1A(R2)**. ICH Steering Committee, Switzerland, 2003.

ICH – International Conference on Harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. **Validation of analytical procedures: Text and Methodology Q2(R1)**. ICH Steering Committee, Switzerland, 2005.

IKAWA, K.; MORIKAWA, N.; HAYATO, S.; IKEDA, K.; OHGE, H.; SUEDA, T. Pharmacokinetic and pharmacodynamic profiling of cefepime in plasma and peritoneal fluid of abdominal surgery patients. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 30, p. 270-273, 2007.

IQBAL, M.S.; BAHARI, M.B.; DARWIS, Y.; VENKATESH, G.; GILLANI, S.W.; KHAN, A.H.; SHESHALA, R. A RP-HPLC-UV method with solid phase extraction for determination of cefepime in total nutrient admixtures: application to stability studies. **Current Pharmaceutical Analysis**, v. 8, p. 68-74, 2012.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, **Normalização e Qualidade Industrial**. Orientação sobre validação de métodos analíticos, DOQ-CGCRE-008, 2011.

ISLA, A.; ARZUAGA, A.; MAYNAR, J.; GASCÓN, A.R.; SOLINÍS, M.A.; CORRAL, E.; PEDRAZ, J.L. Determination of ceftazidime and cefepime in plasma and dialysate-ultrafiltrate from patients undergoing continuous veno-venous hemodiafiltration by HPLC. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 39, p. 996-1005, 2005.

ISO - International Standard Organization. **General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories**, ISO/IEC 17025, 1999.

JABALAMELI, F.; MIRSALEHIAN, A.; KHORAMIAN, B.; ALIGHOLI, M.; KHORAMROOZ, S.S.; ASADOLLAHI, P.; TAHERIKALANI, M.; EMANEINI, M. Evaluation of biofilm production and characterization of genes encoding type III secretion system among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients. **Burns**, v. 38, n. 8, p. 1192-1197, 2012.

JACQUELINE, C.; TATTEVIN, P. Ceftaroline, nouvelle céphalosporine active sur *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline: données expérimentales et cliniques, perspectives thérapeutiques. **Journal des Anti-infectieux**, v. 14, p. 3-10, 2012.

JAGADEESH KUMAR, V.; BADARINADH GUPTA, P.; PAVAN KUMAR, K.S.R.; PRASADA RAO, K.V.V.; RAO, K.R.; PRASANNA, S.J.; KUMAR SHARMA, H.; MUKKANTI, K. Identification and characterization of new degradation products of cefepime dihydrochloride monohydrate drug substance during stress stability studies. **Analytical Sciences**, v. 26, p. 1081-1086, 2010.

JANASEK, D.; FRANZKE, J.; MANZ, A. Scaling and the design of miniaturized chemical-analysis systems. **Nature**, v. 442, p. 374-380, 2006.

JANE, J.; PRASHANT, K.D.; SUBRAHMANYAM, E.V.S. HPLC and colorimetric methods for estimation of cefepime. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, v. 3, p. 102-105, Journal, 2010

JEFFERY, G.H.; BASSET, J.; MENDHAM, J.; DENNEY, R.C. **Vogel: Análise química quantitativa**. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC Livros Técnicos e Científicos, 1992.

JIANG, M.; WANG, L.; JI, R. Biotic and abiotic degradation of four cephalosporin antibiotics in a lake surface water and sediment. **Chemosphere**, v. 80, p. 1399-1405, 2010.

JIMÉNEZ PALACIOS, F.J.; CALLEJÓN MOCHÓN, M.; JIMÉNEZ SÁNCHEZ, J.C.; BELLO LÓPEZ, M.Á.; GUIRÁUM PÉREZ, A. Validation of an HPLC method for determination of cefepime (a fourth-generation cephalosporin). Determination in human serum, cerebrospinal fluid, and urine. Pharmacokinetic profiles. **Chromatographia**, v. 62, p. 355-361, 2005.

JOSHI, S; SHARMA, A.; RAWAT, M.S.M.; DHIMAN, C. Development of conditions for rapid thin layer chromatography of β -lactam antibiotics. **Journal of Planar Chromatography**, v. 22, n. 6, p. 435-437, 2009.

JP. JAPANESE PHARMACOPOEIA. 16th ed. Tokyo Society of Japanese Pharmacopoeia, 2011. p. 557-560.

KAVANAGH, F. **Elements of photometric assaying**. In: KAVANAGH, F. Analytical microbiology. New York: Academic Press, 1963. cap. 4, p.141-217.

KAVANAGH, F. **Photometric assaying**. In: KAVANAGH, F. Analytical microbiology volume II. New York: Academic Press, 1972. cap. 3, p. 43-121.

KAZAKEVICH, Y.; LOBRUTTO, R. **HPLC for Pharmaceutical Scientists**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2007. p.3, 11, 12.

KHAN, A.U.; IQBAL, J.; KHATTAK, S. Kinetics of degradation of cefepime hydrochloride in various aqueous based solutions. **International Journal of Pharmacy and Technology**, v. 4, p. 4079-4089, 2012.

KIM, Y.; YIM, D.; LEE, D.; LEE, S. A simple and sensitive assay for cefepime in human plasma using high performance liquid chromatography. **Korean Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 7, n. 4, p. 247-250, 2003.

KLAUSON, D.; BABKINA, J.; STEPANOVA, K.; KRICHEVSKAYA, M.; PREIS, S. Aqueous photocatalytic oxidation of amoxicillin. **Catalysis Today**, v. 151, n. 1-2, p. 39-45, 2010.

KODYM, A.; PAWŁOWSKA, M.; RUMIŃSKI, J.K.; BARTOSIŃSKA, A.; KIELIBA, A. Stability of cefepime in aqueous eye drops. **Pharmazie**, v. 66, p. 17-23, 2011.

KOGAWA, A.C.; SALGADO, H.R.N. Development and validation of infrared spectroscopy method for the determination of darunavir in tablets. **Physical Chemistry**, v. 33, p. 1-6, 2013.

KOGAWA, A.C.; AGUIAR, F.A.; GAITANI, C.M.; SALGADO, H.R.N. Validation of a stability indicating capillary electrophoresis method for the determination of darunavir in tablets and comparison with the of infrared absorption spectroscopic method. **World Journal Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 6, p. 283-297, 2014.

KOGAWA, A.C.; MELLO, N.P.; SALGADO, H.R.N. Quantification of doxycycline in raw material by an eco-friendly method of infrared spectroscopy. **Pharmaceutica Analytica Acta**, v. 7, n. 2, p. 463, 2016.

KOGAWA, A.C.; SALGADO, H.R.N. Quantification of rifaximin in tablets by spectrophotometric method ecofriendly in ultraviolet region. **Scientifica**, v. 2016, p. 1-9, 2016.

KOGAWA, A.C.; SALGADO, H.R.N. Spectrophotometry in infrared region: a new, low cost and green way to analyze tablets of rifaximin. **Current Pharmaceutical Analysis**, v. 13, p. 1-5, 2017.

KOUFOPOULOU, S.-A.; PISTOS, C.; GIAGINIS, C.; TSANTILI-KAKOULIDOU, A. Application of the ion pair concept to the *n*-octanol–water partitioning of cefepime and cefpirome. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 316, p. 52-57, 2006.

KRICKA, L.J. Miniaturization of analytical systems. **Clinical Chemistry**, v. 44, n. 9, p. 2008-2014, 1998.

KUMAR, V.J.; GUPTA, P.B.; KUMAR, K.S.R.P.; RAO, K.V.V.P; RAO, K.R.; PRASANNA, S.J.; SHARMA, H.K.; MUKKANTI, K. Identification and characterization of new degradation products of cefepime dihydrochloride monohydrate drug substance during stress stability studies. **Analytical Sciences**, v. 26, n. 10, p. 1081-1086, 2010.

KUSABA, T. Safety and efficacy of cefazolin sodium in the management of bacterial infection and in surgical prophylaxis. **Clinical Medicine: Therapeutics**, v. 1, p. 1607-1615, 2009.

LAMY, B.; LAURENT, F.; KODJO, A.; ROGER, F.; JUMAS-BILAK, E.; COLBVH STUDY GROUP, MARCHANDIN, H. Which antibiotics and breakpoints should be used for *Aeromonas* susceptibility testing? Considerations from a comparison of agar dilution and disk diffusion methods using *Enterobacteriaceae* breakpoints. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 31, p. 2369-2377, 2012.

LA ROCA, M.F.; SOARES Sobrinho, J.L.; NUNES, L.C.C.; ROLIM Neto, P.J. Desenvolvimento e validação de método analítico: passo importante na produção de medicamentos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 88, n. 4, p. 177-180, 2007.

LI, D.; YANGA, M.; HUB, J.; ZHANGA, Y.; CHANGB, H.; JINB, F.; Determination of penicillin G and its degradation products in a penicillin production wastewater treatment plant and the receiving river. **Water Research**, v. 42, p. 307-317, 2008.

LI, H.; XING, J.; LIU, Z.; LIU, S. Analysis of cephalosporins by electrospray ionization multi-stage tandem mass spectrometry. **Journal of Chinese Mass Spectrometry Society**, v. 26, n. 4, p. 198-202, 2005.

LI, J.; ZHANG, D.S.; CHONG, X.M.; HU, C.Q. Influence of substituent groups at the 3-position on the mass spectral fragmentation pathways of cephalosporins. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 24, p. 2143-2150, 2010.

LI, J.; ZHANG, D.S.; HU, C.Q. Characterization of impurities in cefpodoxime proxetil using LC-MSⁿ. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 4, n. 4, p. 322-332, 2014.

LING, B.; ALCORN, J. Acute administration of cefepime lowers L-carnitine concentrations in early lactation stage rat milk. **The Journal of Nutrition**, v. 138, n. 7, p. 1317-1322, 2008.

LIU, H.; SANDERLAND, V.B. Validated method for simultaneous determination of cefepime and L-Arginine in cefepime for injection by capillary zone electrophoresis. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, v. 27, n. 19, p. 3065-3076, 2004a.

LIU, H.; SANDERLAND, V.B. Determination of *N*-Methylpyrrolidine in cefepime for injection by capillary electrophoresis with indirect UV detection. **Chromatographia**, v. 59, p. 653-657, 2004b.

LIU, Q.; XU, L.; YU JIN, Y.K.; ZHANG, F.; LIANG, X. Analysis of cephalosporins by hydrophilic interaction chromatography. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 54, p. 623-628, 2011.

LOPES, C.C.G.O; SALGADO, H.R.N. Performance characteristics of bioassay UV-spectrophotometry and high performance liquid chromatographic determination of gatifloxacin in tablets. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1831-1835, 2008.

LOPES, C.C.G.O; SALGADO, H.R.N. Development of a validated stability-indicating LC assay and stress degradation studies of linezolid in tablets. **Chromatographia Supplement**, v. 69, p. S129-S135, 2009.

LOPES, W.A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 670-673, 2004.

MADDOX, F.C.; STEWART, J.T. HPLC determination of an aqueous cefepime and metronidazole mixture. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, v. 22, n. 18, p. 2807-2813, 1999.

MARKENS, U. Conducting stability studies – recent changes to climatic zone IV. **Pharma Times**, v. 42, n. 7, p. 13-14, 2010.

MARONA, H.R.N.; SCHAPOVAL, E.E.S. Spectrophotometric determination of sparfloxacin in tablets. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 44, n. 1, p. 136-137, 1999.

MARONA, H.R.N.; SCHAPOVAL, E.E.S. Performance characteristic of bioassay, UV-spectrophotometry and high performance liquid chromatographic determination of sparfloxacin in tablets. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 2, p. 171-175, 2001a.

MARONA, H.R.N.; SCHAPOVAL, E.E.S. Spectrophotometric determination of sparfloxacin in pharmaceutical formulations using bromothymol blue. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 26, n. 3, p. 501-504, 2001b.

MARSHALL, L.E.; BLAIR, J.E. The cephalosporins. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 74, p. 187-195, 1999.

MARRAPU, A.; VEENAEESH; SIRIPURAPU, K.; KUMAR.G., M. Simultaneous estimation of cefepime HCl and tazobactam sodium in injection dosage form by using RP-HPLC. **International Journal of Pharmacy and Biological Science**, v. 3, n. 4, p. 188-192, 2013.

MARTIN, S.I.; KAYE, K.M. Beta-lactam antibiotics: newer formulations and newer agents. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 18, n. 3, p. 603-619, 2004.

MARTÍNEZ, L.G.; FALCÓ, P.C.; CABEZA, A.S. Comparison of several methods used for the determination of cephalosporins. Analysis of cephalexin in pharmaceutical samples. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 29, n. 3, p. 405-423, 2002.

MASOUD, M.S.; ALI, A.E.; GHAREEB, D.A.; NASR, N.M. Synthesis, molecular spectroscopy and thermal analysis of some cefepime complexes. **Journal of Molecular Structure**, v. 1107, p. 189-201, 2016.

MAXCEF[®]. **Bula cloridrato de cefepima**. Revisão 0214. São Paulo, 2013. Disponível em: <http://www.bristol.com.br/Files/Bulas/MAXCEF_PO_INJ_VP6_Rev0214.pdf>. Acesso em: 01 abr. 2016.

MEYER, V.R. **Practical High-Performance Liquid Chromatography**. 15. ed. West Sussex: John Wiley & Sons, 2010. p.17.

MIRSALEHIAN, A.; FEIZABADI, M.; NAKHJAVANI, F.A.; JABALAMELI, F.; GOLI, H.; KALANTARI, N. Detection of VEB-1, OXA-10 and PER-1 genotypes in extended-spectrum β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients. **Burns**, v. 36, n. 1, p. 70-74, 2010.

MIYABE, K.; TAKEUCHI, S.; TEZUKA, Y. Adsorption characteristics in reversed-phase liquid chromatography using ethanol/water mixed solvent. **Adsorption**, v. 5, p. 15-24, 1999.

MOHAMED, F.A.; SALEH, G.A.; EL-SHABOURY, S.R.; RAGEH, A.H. Selective densitometric analysis of cephalosporins using Dragendorff's reagent. **Journal of Chromatography**, v. 68, n. 5/6, p. 365-374, 2008.

MONTGOMERY, D.C. **Design and Analysis of Experiments**. 7. ed. New York: John Wiley & Sons, 2009.

MORENO, A.H.; SALGADO, H.R.N. Microbiological assay for ceftazidime injection. **Journal of AOAC International**, v. 90, p. 1379-1382, 2007.

MORENO, A.H.; SALGADO, H.R.N. Development of a new high-performance liquid chromatographic method for determination of ceftazidime. **Journal of AOAC International**, v. 91, n. 4, p. 739-743, 2008.

MORENO, A.H.; SALGADO, H.R.N. Rapid and selective UV spectrophotometric method for the analysis of ceftazidime. **Journal of AOAC International**, v. 92, p. 820-823, 2009.

MORENO, A.H.; SALGADO, H.R.N. Desenvolvimento de metodologia qualitativa para identificação de ceftazidima. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31, n. 3, p. 165-173, 2010.

MORENO, A.H.; SALGADO, H.R.N. Comparison of high performance liquid chromatography and three titrimetric methods for the determination of ceftazidime in pharmaceutical formulations. **Advances in Analytical Chemistry**, v. 2, n. 3, p. 6-13, 2012a.

MORENO, A.H.; SALGADO, H.R.N. Development and validation of the quantitative analysis of ceftazidime in powder for injection by infrared spectroscopy. **Physical Chemistry**, v. 2, p. 6-11, 2012b.

MOSTAFA, N.M.; ABDEL-FATTAH, L.; WESHAHY, S.A.; HASSAN, N.Y.; BOLTIA, S.A. Stability-indicating spectro urometric method for the determination of some cephalosporin drugs via their degradation products. **Journal of AOAC International**, v. 98, n. 2, p. 361-370, 2015.

MRESTANI, Y.; NEUBERT, R.; MUNK, A.; WIESE, M. Determination of dissociation constants of cephalosporins by capillary zone electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 803, p. 273-278, 1998.

NÄGELE, E.; MORITZ, R. Structure elucidation of degradation products of the antibiotic amoxicillin with ion trap MSⁿ and accurate mass determination by ESI TOF. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 16, n. 10, p. 1670-1676, 2005.

NANDA, R.K.; NAVATHAR, D.A.; KULKARNI, A.A.; PATIL, S.S. Simultaneous spectrophotometric estimation of cefepime and tazobactam in pharmaceutical dosage form. **International Journal of ChemTech Research**, v. 4, n. 1, p. 152-156, 2012.

NATORI, J.S.H.; TÓTOLI, E.G.; SALGADO, H.R.N. Development and validation of a green analytical method for the determination of norfloxacin in raw material by FTIR spectrophotometry. **Journal of AOAC International**, v. 99, n. 6, p. 1533-1536, 2016.

NAWAL, A.; EL-HANAA, M.; ABDEL-WADOOD, M.S.; MOUSA, H. Spectrophotometric analysis of cefepime through its Hg(I) complex. **Bulletin Pharmaceutical Sciences**, v. 35, p. 55-65, 2012.

NEELIMA, K.; RAJENDRA PRASAD, Y.; APPALRAJU, N.; SELINA, S.; NIKHILA, R. Analytical method development and validation of cefepime hydrochloride and tazobactam sodium in bulk and sterile dry powder for injection by gradient RP-HPLC. **Indo American Journal of Pharmaceutical Research**, v. 3, n. 10, p. 8400-8407, 2013.

NEMUTLU, E.; KIR, S.; KATLAN, D.; BEKSAÇ, M.S. Simultaneous multiresponse optimization of an HPLC method to separate seven cephalosporins in plasma and amniotic fluid: application to validation and quantification of cefepime, cefixime and cefoperazone. **Talanta**, v. 80, p. 117-126, 2009.

NETO, B.B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. **Como fazer experimentos**. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2010.

NING, C.; YIJUN, C. Study on the determination of high molecular polymers in cefepime hydrochloride. **Guangdong Yaoxueyuan Xuebao**, v. 27, n. 6, p. 613-616, 2011.

NOGUEIRA, K.S.; DAUR, A.V.; REASON, I.T.; GALES, A.C.; COSTA, L.M. Cefepime versus extended spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 15, n. 2, p. 167-169, 2011.

NOLASCO, F.R.; TAVARES, G.A.; BENDASSOLLI, J.A. Implantação de programas de gerenciamento de resíduos químicos laboratoriais em universidades: análise crítica e recomendações. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 11, p. 118-124, 2006.

NOLIN, T.D.; LAMBERT, D.A.; OWENS JR, R.C. Stability of cefepime and metronidazole prepared for simplified administration as a single product. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 56, p. 179-184, 2006.

OCAÑA GONZÁLEZ, J.A.; JIMÉNEZ PALACIOS, F.J.; CALLEJÓN MOCHÓN, M.; BARRAGÁN DE LA ROSA, F.J. Simultaneous determination of cefepime and grepafloxacin in human urine by high-performance liquid chromatography. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 36, p. 117-123, 2004.

OCAÑA GONZÁLEZ, J.A.; CALLEJÓN MOCHÓN, M.; BARRAGÁN DE LA ROSA, F.J. Simultaneous determination of cefepime and the quinolones garenoxacin, moxifloxacin and levofloxacin in human urine by HPLC-UV. **Microchimica Acta**, v. 151, p. 39-45, 2005.

OHANNESIAN, L.; STREETER, A.J. **Handbook of Pharmaceutical Analysis**. New York: Marcel Dekker, 2002. p. 87-149, 187-224.

OHMORI, T.; SUZUKI, A.; NIWA, T.; USHIKOSHI, H.; SHIRAI, K.; YOSHIDA, S.; OGURA, S.; ITOH, Y. Simultaneous determination of eight β -lactam antibiotics in human serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v. 879, p. 1038-1042, 2011.

PAGE, N.; STEVENSON, R.; POWELL, M. Analysis of *N*-methylpyrrolidine in cefepime hydrochloride by ion chromatography using suppressed conductivity detection with solid-phase extraction pre-treatment. **Analytical Methods**, v. 6, p. 1248-1253, 2014.

PAPAGORAS, D.; GIAMARELLOS-BOURBOULIS, E.J.; KANARA, M.; DOURIDAS, G.; PARASKEVOPOULOS, I.; ANTZAKLIS, G.; KARAYANNACOS, P.; GIAMARELLOU, H. Pancreatic concentrations of cefepime in experimental necrotizing pancreatitis. **Journal of Chemotherapy**, v. 15, n. 1, p. 43-46, 2003.

PAPANNA, R.K.; KRISHNEGOWDA, J.B.; NAGARAJA, P. Spectrophotometric method for the determination of cefepime, cefazolin sodium and cefalothin sodium in pure and pharmaceutical dosage forms by using ninhydrin. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 7, n. 5, p. 194-199, 2015.

PATANI, K.; PATEL, U.; BHAVSAR, S.; THAKER, A.; SARVAIYA, J. Single dose pharmacokinetics of cefepime after intravenous and intramuscular administration in goats. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 32, n. 3, p. 159-162, 2008.

PATEL, U.D.; BHAVSAR, S.K.; THAKER, A.M. Pharmacokinetics and dosage regimen of cefepime following single dose intravenous administration in calves. **Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics**, v. 5, n. 2, p. 127-130, 2006.

PATEL, U.G.; MODY, S.K.; TRADA, B.S. HPLC analysis and pharmacokinetics of cefepime in sheep following single dose intravenous administration. **Journal of Veterinary Pharmacology and Toxicology**, v. 5, n. 1-2, p. 43-46, 2006.

PATEL, B.; PATEL, J.; PARMAR, K.; PATEL, M. Spectrophotometric estimation of fourth generation cephalosporin: cefepime in pharmaceutical dosage forms. **IJPI's Journal of Analytical Chemistry**, v. 1, n. 2, p. 7-11, 2011.

PATEL, H.B.; PATEL, N.N.; PATEL, S.D.; DEWDA, S.; PATEL, J.H.; BHAVSAR, S.K.; THAKER, A.M. Effect of ketoprofen co-administration and febrile state on pharmacokinetic of cefepime in goats. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 7, n. 1, p. 46-53, 2012a.

PATEL, N.N.; PATEL, H.B.; PATEL, S.D.; PATEL, J.H.; BHAVSAR, S.K.; THAKER, A.M. Effect of ketoprofen co-administration and febrile state on pharmacokinetic of cefepime in sheep. **Veterinarski Arhiv**, v. 82, n. 5, p. 473-481, 2012b.

PATEL CHAHANA, A.; PATEL HARSHA, U.; PATEL CHHAGANBHAI, C. Estimation of cefepime hydrochloride in injectable dosage form by difference spectrophotometry. **Journal of Global Pharma Technology**, v. 4, n. 5, p. 6-8, 2013.

PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G.M.; KRIZ, G.S.; VYVYAN, J.R. **Introdução à Espectroscopia**. 4. ed. São Paulo: Cengage learning, 2010. 700p.

PEDROSO, T.M.; SALGADO, H.R.N. Validation of cefazolin sodium by UV-spectrophotometric method. **Physical Chemistry**, v. 3, p. 11-20, 2013.

PEDROSO, T.M.; SALGADO, H.R.N. Validation of analytical methodology for quantification of cefazolin sodium pharmaceutical dosage form by high performance liquid chromatography to be applied for quality control in pharmaceutical industry. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 1, p. 213-223, 2014a.

PEDROSO, T.M.; SALGADO, H.R.N. Development and validation of a microbiological assay by turbidimetry to determine the potency of cefazolin sodium in the lyophilized powder form. **Analytical Methods**, v. 6, p. 1391-1396, 2014b.

PEDROSO, T.M.; MEDEIROS, A.C.D.; SALGADO, H.R.N. RP-HPLC HILIC chromatography for quantifying ertapenem sodium with a look at green chemistry. **Talanta**, v. 160, p. 745-753, 2016.

PENG, C.; ZHANG, J.; GUO, J. Determination of cefepime in human plasma by SEP-HPLC. **Zhongguo Yaoshi**, v. 15, n. 9, p. 1258-1260, 2012.

PETRIKKOS, G.; KASTANAKIS, M.; MARKOGIANNAKIS, A.; KASTANAKIS, S.; BASTOUNIS, E.; ANTONIOS, P.; DAIKOS, G.L.; KATSILAMBROS, N. Pharmacokinetics of cefepime in bile and gall bladder tissue after prophylactic administration in patients with extrahepatic biliary diseases. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 27, p. 331-334, 2006.

PINTO, T.J.A.; KANEKO, T. M.; PINTO, A.F. **Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2010. p. 3-4, 16-23.

PISTOS, C.M.; TSANTILI-KAKOULIDOU, A.; KOUPPARIS, M. The effect of ion pairing reagents in the retention profile of zwitterionic cephalosporins. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, v. 26, p. 937-952, 2003.

PITKIN, D.; ACTOR, P.; HOLL, W.; POST, A.; WEISBACH, J.A. Semiautomated turbidimetric microbiological assay for determination of cefazolin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 5, n. 3, p. 223-227, 1974.

PRASANNA, S.J.; SHARMA, H.KR.; MUKKANTI, K.; KUMAR, V.J.; RAJA, G.; SIVAKUMARAN, M. Validation of capillary electrophoresis method for determination of N-methylpyrrolidine in cefepime for injection. **Journal of Chromatographic Science**, v. 48, n. 10, p. 830-834, 2010.

RABOUAN-GUYON, S.M.; GUET, A.F.; COURTOIS, P.Y.; BARTHES, D.M.C. Stability study of cefepime in different infusion solutions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 154, p. 185-190, 1997.

RAMBABU, C.; JYOTHIRMAYEE, C.A.; NAGA RAJU, K. Spectrophotometric analytical study for the charge-transfer complex formation of cefepime. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 1, p. 417-418, 2012.

RAMBLA-ALEGRE, M.; MARTÍ-CENTELLES, R.; ESTEVE-ROMERO, J.; CARDA-BROCH, S. Application of a liquid chromatographic procedure for the analysis of penicillin antibiotics in biological fluids and pharmaceutical formulations using sodium dodecyl sulfate/propanol mobile phases and direct injection. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 4972-4981, 2011.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; FLOWER, R.J. **Rang & Dale Farmacologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. 829p.

REYGAERT, W.C. Ceftobiprole: An emerging therapeutic option for resistant and complicated infections. **Clinical Medicine Insights: Therapeutics**, v. 3, p. 57-66, 2011.

RFE. REAL FARMACOPEA ESPAÑOLA. 3. ed. Madrid: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2005.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C.B.G.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F.; MELO, L.F.C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, p. 771-780, 2004.

RIBEIRO, R.L.V.; GRESPAN, C.B.; COLLINS, C.H.; COLLINS, K.E.; BRUNS, R.E. Optimization through factorial planning of the use of ethanol:water as a mobile phase for reversed phase HPLC. **Journal of High Resolution Chromatography**, v. 22, p. 52-54, 1999.

RIBEIRO, R.L.V.; BOTTOLI, C.B.G.; COLLINS, K.E.; COLLINS, C.H. Reevaluation of ethanol as organic modifier for use in HPLC-RP mobile phases. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, p. 300-306, 2004.

ROBERTS, J.A.; ULLDEMOLINS, M.; ROBERTS, M.S.; MCWHINNEY, B.; UNGERER, J.; PATERSON, D.L.; LIPMAN, J. Therapeutic drug monitoring of β -lactams in critically ill patients: proof of concept. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 36, n. 4, p. 332-339, 2010.

ROCHA, F.R.P.; TEIXEIRA, L.S.G. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 807-812, 2004.

RÓDENAS, V.; PARRA, A.; GARCIA-VILLANOVA, J.; GÓMEZ, M.D. Simultaneous determination of cefepime and L-arginine in injections by second-derivative spectrophotometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 13, n. 9, p. 1095-1099, 1995.

RODRIGUES, D.F.; SALGADO, H.R.N. Development and validation of a green analytical method of RP-HPLC for quantification of cefepime hydrochloride in pharmaceutical dosage form: simple, sensitive and economic. **Current Pharmaceutical Analysis**, v. 12, p. 306-314, 2016.

RUGANI, K.S.; SALGADO, H.R.N. Stability-indicating LC method for the determination of cephalothin in lyophilized powder for injection. **Analytical Methods**, v. 6, p. 4437-4445, 2014.

SACHER, F.; LANGE, F.T.; BRAUCH, H-J.; BLANKENHORN, I., Pharmaceuticals in groundwaters analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Wurttemberg, Germany. **Journal of Chromatography A**, v. 938, p. 199-210, 2001.

SADER, H.S.; FRITSCH, T.R.; JONES, R.N. Accuracy of three automated systems (MicroScan WalkAway, VITEK, and VITEK 2) for susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa* against five broad-spectrum beta-lactam agents. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 3, p. 1101-1104, 2006.

SAKR, A.M.; KASSEN, A.A.; AZIZ, S.A.A.; SHALABY, A.H. Factors affecting physical standards of tablets. **Manufacturing Chemistry and Aerosol News**, v. 23, n. 11, p. 38-44, 1972.

SALGADO, H.R.N.; MORENO, P.R.H.; BRAGA, A.L.; SCHAPOVAL, E.E.S. Photodegradation of sparfloxacin and isolation of its degradation products by preparative HPLC. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 26, n. 1, p. 47-54, 2005.

SALGADO, H.R.N.; MORENO, A.H.; GARG, S. LC-DAD Determination of fleroxacin in bulk and pharmaceutical dosage forms. **Chromatographia Supplement**, v. 69, p. S237-S250, 2009.

SALGADO, H.R.N.; OLIVEIRA, C.L.C.G. Development and validation of a UV spectrophotometric method for determination of gatifloxacin in tablets. **Die Pharmazie**, v. 60, n. 4, p. 263-264, 2005.

SALGADO, H.R.N.; TOZO, G.C.G. Microbiological assay for cefoxitin sodium in dosage form. **Journal of AOAC International**, v. 90, n. 2, p. 452-455, 2007.

SAMANIDOU, V.F.; HAPESHI, E.A.; PAPADOYANNIS, I.N. Rapid and sensitive high-performance liquid chromatographic determination of four cephalosporins antibiotics in pharmaceuticals and body fluids. **Journal of Chromatography**, v. 788, p. 147-158, 2003.

SANDERS, W.E. JR.; TENNEY, J.H.; KESSLER, R.E. Efficacy of cefepime in the treatment of infections due to multiply resistant *Enterobacter* species. **Clinical Infectious Diseases**, v. 23, n. 3, p. 454-461, 1996.

SENZEL, A.J. Miniaturization in analytical instrumentation. **Analytical Chemistry**, v. 42, n. 11, p. 79A-81A, 1970.

SHAMSIPUR, M.; TALEBPOUR, Z.; BIJANZADEH, H.R.; TABATABEI, S. Monitoring of ampicillin and its related substances by NMR. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 30, p. 1075-1085, 2002.

SHEN, K.; LU, Y.; YU, Z.; WANG, Q.; ZHOU, J.; LI, D.; ZHAO, Z. HPLC determination of cefepime in human plasma and cerebrospinal fluid. **Yaowu Fenxi Zazhi**, v. 25, n. 3, p. 263-266, 2005.

SHUKLA, A.K.; FUTRELL, J.H. Tandem mass spectrometry: dissociation of ions by collisional activation. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 35, n. 9, p. 1069-1090, 2000.

SIDDIQUI, M.R.; TARIQ, A.; REDDY, K.D.; NEGI, P.S.; YADAV, J.; BHATNAGAR, A.; CHAUDHARY, M.; SINGH, R. High performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of cefepime and sulbactam in pharmaceutical formulation (supime) and biological samples. **International Journal of Pharmacology**, v. 6, p. 271-277, 2010.

SILVA, L.M.; SALGADO, H.R.N. Validation of a stability-indicating RP-LC method for the determination of tigecycline in lyophilized powder. **Journal of Chromatographic Science**, v. 0, p. 1-8, 2012.

SILVA, L.M.; SALGADO, H.R.N. Rapid turbidimetric assay to potency evaluation of tigecycline in lyophilized powder. **Journal of Microbiological Methods**, v. 110, p. 49-53, 2015.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X.; KIEMLE, D. **Identificação espectrofotométrica de compostos orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007. p. 70-122.

SINGH, G.S. Beta-lactams in the new millennium. Part-II: cepheems, oxacepheems, penams and sulbactam. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 4, p. 93-109, 2004.

SINGH, P.S.; SHAH, G.; BHARTI, R. To formulate the fixed dose combination of cefepime and amikacin. **International Journal of Institutional Pharmacy and Life Sciences**, v. 1, p. 279-293, 2011.

SINGH, S.; RIYAZ, M.; RAJ, V.; KUMAR, A. Newer method to estimate cefepime in bulk and pharmaceutical formulation by ultraviolet spectroscopy. **International Journal of Pharmacy and Integrated Life Sciences**, v. 1, n. 4, p. 149-158, 2013.

SILVEIRA, G.P.; NOME, F.; GESSER, J.C.; SÁ, M.M.; TERENCE, H. Estratégias utilizadas no combate à resistência bacteriana. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 844-855, 2006.

SMITH, R.W.; COX, L.B.; YUDIN, A.; REYNOLDS, J.C.; POWELL, M.; CREASER, C.S. Rapid determination of *N*-methylpyrrolidine in cefepime by combining direct infusion electrospray ionisation-time-of-flight mass spectrometry with field asymmetric waveform ion mobility spectrometry. **Analytical Methods**, v. 7, p. 34-39, 2015.

SOUZA, M.J.; KULMANN, R.R.; SILVA, L.M.; NOGUEIRA, D.R.; ZIMMERMANN, E.S.; SCHMIDT, C.A. Development and in-house validation of a microbiological assay for determination of cefepime in injectable preparations. **Journal of AOAC International**, v. 89, n. 5, p. 1367-1372, 2006.

STOCKA, J.; TANKIEWICZ, M.; BIZIUK, M.; NAMIEŚNIK, J. Green aspects of techniques for the determination of currently used pesticides in environmental samples. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, p. 7785-7805, 2011.

SUBRAMANIAN, N.H.; THYAGARAJAN, S.; MANIGANDAN, P.; JEEVAN, R.G.; RADHAKRISHNAN, G. An improved ion chromatographic method for fast and sensitive determination of *N*-methylpyrrolidine in cefepime hydrochloride. **Journal of Chromatographic Science**, v. 47, n. 7, p. 549-552, 2009.

SUJITH, M.; ABRAHAM, S.; DIVAKAR, M.C. Visible spectrophotometric method for the estimation of cefepime. **Hygeia Journal of Drugs and Medicines**, v. 2, n. 2, p. 32-37, 2010.

SUNITHA, N.; SINDHURA, L.; THANGABALAN, B.; MANOHAR BABU, S. Development and validation of RP-HPLC method for simultaneous estimation of cefepime and tazobactam in injection formulation. **Asian Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 3, n. 4, p. 131-137, 2013.

SWEETMAN, S.C. (Ed). **Martindale: The Complete Drug Reference**. 36th ed. London: RPS Publishing, 2009. 3694 p.

TAMBOLI, S.R.; PATIL, D.D. RP-HPLC method for simultaneous estimation of cefepime hydrochloride and tazobactam sodium in bulk and pharmaceuticals. **Journal of Chemistry**, v. 2013, p. 1-6, 2013.

TIEGANG, Z. Determination of cefepime hydrochloride residue in eluting solution of equipment by HPLC. **Heilongjiang Yiyao**, v. 22, p. 604-606, 2009.

TOBISZEWSKI, M.; MECHLINSKA, A.; ZYGMUNT, B.; NAMIESNIK, J. Green analytical chemistry in sample preparation for determination of trace organic pollutants. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, p. 943-951, 2009.

TORRES, I.M.S.; BENTO, E.B.; ALMEIDA, L.C.; MARTINS DE SÁ, L.Z.C.; LIMA, E.M. Preparation, characterization and in vitro antimicrobial activity of liposomal ceftazidime and cefepime against *Pseudomonas aeruginosa* strains. **Brazilian Journal of Microbiology**, p. 984-992, 2012.

TÓTOLI, E.G.; SALGADO, H.R.N. Development and validation of the quantitative analysis of ampicillin sodium in powder for injection by fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR). **Physical Chemistry**, v. 2, n. 6, p. 103-108, 2012.

TÓTOLI, E.G.; SALGADO, H.R.N. Development and validation of an economic, environmental friendly and stability-indicating analytical method for determination of ampicillin sodium for injection by RP-HPLC. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 6, p. 1928-1943, 2014.

TÓTOLI, E.G.; SALGADO, H.R.N. A green approach for the quantification of daptomycin in pharmaceutical formulation by UV spectrophotometry. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 51, p. 811-821, 2015a.

TÓTOLI, E.G.; SALGADO, H.R.N. Development, optimization, and validation of a green and stability-indicating HPLC method for determination of daptomycin in lyophilized powder. **Journal of AOAC International**, v. 98, p. 1276-1285, 2015b.

TÓTOLI, E.G.; SALGADO, H.R.N. Rapid turbidimetric assay to determine the potency of daptomycin in lyophilized powder. **Pharmaceutics**, v. 7, p. 106-121, 2015c.

TOZO, G.C.G; SALGADO, H.R.N. Determination of lomefloxacin in tablet preparations by liquid chromatography. **Journal of AOAC International**, v. 89, n. 5, p. 1305-1308, 2006.

TRIVEDI, H.K.; KSHTRI, N.; PATEL, M.C. A rapid, validated RP-HPLC method for the simultaneous determination of cleaning validation and cross-contamination of 12 beta-lactam compounds. **Scientia Pharmaceutica**, v. 81, p. 151-165, 2013.

USLU, B.; OZKAN, S.A.; ZUMAN, P. Contribution to the alkaline degradation of cefepime. **Microchemical Journal**, v. 76, p. 61-63, 2004.

USP 37. The United States Pharmacopeia. The National Formulary (NF 32). 37th ed. Rockville, MD: United States Pharmacopeia Convention, 2014.

VALASSIS, I.N.; PARISSI-POULOU, M.; MACHERAS, P. Quantitative determination of cefepime in plasma and vitreous fluid by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography B**, v. 721, p. 249-255, 1999.

VADAS, E.B. Stability of pharmaceutical products. In: GENARO, A.R. Remington's: **The science and practice of pharmacy**. 20. ed. Easton: Mack Publishing Company, 2000. p. 986-994.

VEDEL, G. Simple method to determine β -lactam resistance phenotypes in *Pseudomonas aeruginosa* using the disc agar diffusion test. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 56, p. 657-664, 2005.

VERA LÓPEZ, K.J.; FARIA BERTOLUCI, D.; VICENTE, K.M.; DELL'AQUILLA, A.M.; JORGE SANTOS, S.R.C. Simultaneous determination of cefepime, vancomycin and imipenem in human plasma of burn patients by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography B**, v. 860, p. 241-245, 2007.

VERDIER, M.C.; TRIBUT, O.; TATTEVIN, P.; TULZO, Y.L.; MICHELET, C.; BENTUÉ-FERRER, D. Simultaneous determination of 12 β -Lactam antibiotics in human plasma by high-performance liquid chromatography with UV detection: application to therapeutic drug monitoring. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 10, p. 4873-4879, 2011.

VIEIRA, D.C.M.; SALGADO H.R.N. Comparison of HPLC and UV spectrophotometric methods for the determination of cefuroxime sodium in pharmaceutical products. **Journal of Chromatographic Science**, v. 49, p. 508-511, 2011.

VIEIRA, D.C.M.; RICARTE, P.C.; SALGADO H.R.N. Development and validation of the quantitative analysis of cefuroxime sodium in powder for injection by infrared spectroscopy. **Advances in Analytical**, v. 2, p. 80-87, 2012a.

VIEIRA, D.C.M.; RICARTE, P.C.; SALGADO H.R.N. Validation of microbiological assay for determination of cefuroxime in injectable preparations. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 31, p. 746-750, 2012b.

VIEIRA, D.C.M.; FIUZA, T.; SALGADO H.R.N. Development and validation of a rapid turbidimetric assay to determine the potency of cefuroxime sodium in powder for dissolution for injection. **Pathogens**, v. 3, p. 656-666, 2014.

VIMAL, D.M. Development and validation of RP-HPLC method for simultaneous estimation of cefepime hydrochloride and amikacin sulphate in injection dosage form. **Journal of Pharmaceutical Science and Bioscientific Research**, v. 2, p. 138-143, 2012.

VOGEL, A. **Análise química quantitativa**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2002. p. 351-354.

WAGNER, R.D.; JOHNSON, S.J.; CERNIGLIA, C.E.; ERICKSON, B.D. Bovine intestinal bacteria inactivate and degrade ceftiofur and ceftriaxone with multiple β -lactamases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 11, p. 4990-4998, 2011.

WANG, X. Determination of cefepime hydrochloride and its related substances by HPLC. **Zhongguo Yaoxue Zazhi**, v. 40, n. 12, p. 938-940, 2005.

WANG, J.; RUAN, D.; SHAN, W. Separation and characterization of the impurities and isomers in cefmenoxime hydrochloride by HPLC-UV-MSⁿ. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, v. 36, n. 15, p. 2125-2141, 2013.

WANG, J.; WANG, Q.; ZHAO, L.; SHI, G.; ZHOU, J. Blood-brain barrier penetration of cefepime after neurosurgery. **Chinese Medical Journal**, v. 120, n. 13, p. 1176-1178, 2007.

WOLFF, F.; DEPREZ, G.; SEYLER, L.; TACCONE, F.; HITES, M.; GULBIS, B.; VINCENT, J.; JACOBS, F.; COTTON, F. Rapid quantification of six β -lactams to optimize dosage regimens in severely septic patients. **Talanta**, v. 103, p. 153-160, 2013.

WRIGHT, G.D. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. **Chemical Communications**, v. 47, p. 4055-4061, 2011.

- YAN, S.; SONG, W. Photo-transformation of pharmaceutically active compounds in the aqueous environment: a review. **Environmental Science Processes and Impacts**, v. 16, n. 4, p. 697-720, 2014.
- YAN, X.; HU, X.; CAO, G.; HE, X. Simultaneous determination of cefepime HCl and its related substances by RP-HPLC. **Zhongguo Xinyao Zazhi**, v. 13, n. 1, p. 47-49, 2004.
- YOU DEN, W.J.; STEINER, E.H. **The Association of Official Analytical Chemistry**. v. 33, Washington, DC, 1975.
- XIA, D.; GUO, T.; CHEN, Y.; QIN, H. Determination of the content of cefepime in human plasma by HPLC method. **Yaoxue Fuwu Yu Yanjiu**, v. 7, n. 2, p. 117-119, 2007.
- ZAID, A.N.; AL-RAMAHI, R.; GHOSH, A.A.; MALKIEH, N.; KHAROAF, M. Influence of physical factors on tablet splitting, weight and content uniformity of atenolol tablets. **Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 42, n. 5, p. 229-234, 2012.
- ZAJĄC, M.; MUSZALSKA, I. Mechanism of ceftriaxone degradation in aqueous solution. **Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research**, v. 55, n. 1, p. 35-39, 1998.
- ZAJĄC, M.; SIWEK, J.; MUSZALSKA, I. The mechanism of ceftazidime degradation in aqueous solutions. **Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research**, v. 55, n. 4, p. 275-278, 1998.
- ZALEWSKI, P.; SKIBINSKI, R.; CIELECKA-PIONTEK, J. Stability studies of cefpirome sulfate in the solid state: identification of degradation products. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 92, p. 22-25, 2014.
- ZHANG, G.; TAO, W.; XU, Y.; GE, W. Determination of cefepime hydrochloride for injection by HPLC. **Huaxi Yaoxue Zazhi**, v. 23, n. 4, p. 470-471, 2008.
- ZHANG, X.; FENG, Y.; HU, C. Feasibility and extension of universal quantitative models for moisture content determination in beta-lactam powder injections by near-infrared spectroscopy. **Analytica Chimica Acta**, v. 630, n. 2, p. 131-140, 2008.
- ZHU, J.; ZHANG, H.; HU, C. Optimal mode of capillary electrophoresis for the impurity analysis of β -lactam antibiotics. **Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences**, v. 19, p. 285-292, 2010.