



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

BRUNNA SOARES RODRIGUES COSTA

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE FORMULAÇÕES LÍQUIDAS ORAIS DE
SULFADIAZINA OBTIDAS A PARTIR DE COMPRIMIDOS**

NATAL/ RN

2019

BRUNNA SOARES RODRIGUES COSTA

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE FORMULAÇÕES LÍQUIDAS ORAIS DE
SULFADIAZINA OBTIDAS A PARTIR DE COMPRIMIDOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof. Dr^a Ana Paula Barreto Gomes

Coorientadora: Prof. Dr^a Lourena Mafra Veríssimo

NATAL/ RN

2019

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN
Sistema de Bibliotecas - SISBI
Catalogação de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Setorial do Centro Ciências da Saúde - CCS

Costa, Brunna Soares Rodrigues.

Avaliação da estabilidade de formulações líquidas orais de sulfadiazina obtidas a partir de comprimidos / Brunna Soares Rodrigues Costa. - 2019.

92f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Natal, RN, 2019.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula Barreto Gomes.

Coorientadora: Profa. Dra. Lourena Mafra Veríssimo.

1. Sulfadiazina - Dissertação. 2. Formulação pediátrica oral - Dissertação. 3. Estabilidade - Dissertação. 4. cromatografia Líquida de Ultra Eficiência - CLUE - Dissertação. I. Gomes, Ana Paula Barreto. II. Veríssimo, Lourena Mafra. III. Título.

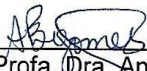
RN/UF/BSCCS

CDU 615.015

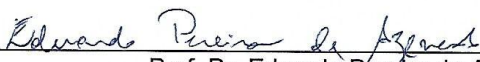
Brunna Soares Rodrigues Costa

Avaliação da estabilidade de formulações líquidas orais de sulfadiazina obtidas a partir de comprimidos

Banca Examinadora:



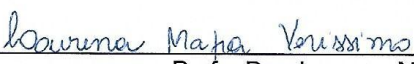
Profa. Dra. Ana Paula Barreto Gomes
Presidente – UFRN



Prof. Dr. Eduardo Pereira de Azevedo
Examinador Externo – UnP



Prof. Dr. Fernando Henrique Andrade Nogueira
Examinador Interno – UFRN



Profa. Dra. Lourena Mafra Verissimo
Examinador Interno – UFRN

Natal, 20 de março de 2019

NATAL / RN
2019

***“O temor do Senhor é o princípio do
conhecimento”***

Provérbios 1:7a

AGRADECIMENTOS

Agradeço à DEUS pela paz que excede todo o entendimento, Ele me proporcionou momentos ímpares durante esses dois anos que sem a Sua presença eu não suportaria. Com sua infinita misericórdia, me concedeu a oportunidade de realizar mais um sonho. À Ele toda a glória e minha gratidão!

Aos meus pais, Ialtamira e Máximo, e ao meu irmão, Brenno, por acreditarem em mim, me fornecerem suporte quando precisei e compreenderem minha ausência. Vocês são a minha base! Amo vocês!

Ao meu eterno namorado, Mackson Costa, pelo amor, companheirismo, incentivo diário e paciência. O seu otimismo foi essencial nessa jornada e me motivou a continuar sempre! Juntos ainda voaremos mais alto! Obrigada por tudo! Eu te amo!

Aos meus sogros, Maria da Paz e José Luiz, e às minhas cunhadas, Salete e Priscila, pelas orações e palavras de ânimo. Que linda família eu ganhei!

À professora Lourena Mafra por ter confiado no meu potencial me concedendo a oportunidade de participar do projeto de pesquisa e pelas orientações durante o desenvolvimento da pesquisa.

À professora Ana Paula por me receber como sua orientanda, me ajudar a crescer como profissional e ser humano, por apoiar meus sonhos e pela tranquilidade semeada em todos os momentos.

Aos professores Fernando Nogueira, Waldenice Moraes e Cícero Aragão pelas contribuições dadas a esse trabalho.

Aos alunos de Iniciação Científica, Leandro e Sheyla, que foram essenciais na realização dessa pesquisa, sempre dispostos e disponíveis a contribuir.

Aos meus mestres de Cromatografia Líquida, Marcelo Amorim e Dayanne Lopes, por terem compartilhado seus conhecimentos e experiências comigo, acompanharem a minha trajetória e por regarem meus dias com ânimo.

A todos do NUPLAM, em especial aos meus colegas de laboratório de Controle de Qualidade Microbiológico, Raíza, Bruno, Paula e Francilene, que me auxiliaram nas atividades no laboratório e sempre me abasteciam as forças com palavras de otimismo.

A todos do LCQMed, em especial a George, Fernanda, Thereza e Nilma, por me ajudarem em muitos momentos.

As minhas amigas F5, Priscila Amorim, Lorena Cirilo, Aja Devi Dasi, Ynara Fernandes, que compreenderam minha ausência, me suportaram nos dias de estresse, e sempre me incentivaram a persistir na caminhada. Obrigada pela amizade sincera de vocês!

Aos irmãos em Cristo que sempre estiveram com um abraço amigo para me acalmar e com as melhores expectativas, em especial Andrielly, Wellison, Janaína, Jackson, Douglasnilson, Brenda, Suellem, Hildemberg, Cinthia, Gedeão, Meryenne, Irinaldo e Werig.

Ao Departamento de Nutrição da UFRN pela amizade, torcida e ajuda necessária, especialmente à Erika Freitas, Karine Sena, Silvano Carvalho, Jéssica Anarellis e Dona Graça.

Ao Núcleo de Pesquisa em Alimentos e Medicamentos (NUPLAM) pelo apoio à realização dessa pesquisa com a estrutura necessária, em especial ao professor Carlos Lima, à professora Lourena Mafra e à farmacêutica Isabel Leiros.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas e docentes pelos ensinamentos adquiridos e pela oportunidade cursar essa pós-graduação.

À UFRN, responsável pela minha formação acadêmica, profissional e humana, pela oportunidade de realizar esse mestrado.

Enfim, a todos que aqui não foram citados, mas que contribuíram com palavras de otimismo e hoje comemoram comigo a conclusão dessa pesquisa. Aqui deixo registrado o meu MUITO OBRIGADA!

RESUMO

A sulfadiazina (SDZ) é um dos fármacos utilizados para o tratamento da toxoplasmose congênita em neonatos, entretanto a única formulação oral comercialmente disponível é em comprimido (500 mg). Uma das estratégias para solucionar esse problema é através da transformação de formas farmacêuticas. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo preparar e avaliar a estabilidade física, química e microbiológica de suspensões extemporâneas de SDZ (100 mg/mL) usando comprimidos (FURP-Sulfadiazina). Os veículos de suspensão utilizados foram: A – xarope simples 85% e metilcelulose 1% (p/v); e B – sorbitol 70%. A estabilidade foi avaliada durante os dias 0, 7, 14 e 30 sob armazenamento em temperaturas controladas de $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $22,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. A estabilidade física foi analisada através das características organolépticas, do pH, do tamanho de partícula e da viscosidade. A concentração de SDZ foi determinada através de método desenvolvido e validado utilizando a cromatografia líquida de ultra eficiência (CLUE). Os atributos microbiológicos de formas farmacêuticas não estéreis também foram avaliados, adicionando ácido p-aminobenzóico aos meios de cultura a fim de neutralizar a atividade antimicrobiana da SDZ. O pH e a viscosidade apresentaram diferenças significativas nos dias de estudo. A distribuição do tamanho de partícula foi constante até 14 dias de estudo para ambas as formulações. Todavia, apenas a suspensão de SDZ A apresentou resultados confiáveis dentro dos limites farmacopeicos, provavelmente influenciadas pela solubilidade do ativo em diferentes pH, sedimentação de partículas e redução da viscosidade. Ademais, durante o estudo não foi observado contaminação microbiana. Com base nos resultados, pode-se concluir que a suspensão de SDZ A em temperatura ambiente é estável durante 14 dias, sendo uma alternativa viável para o tratamento pediátrico da toxoplasmose congênita.

Palavras-chave: Sulfadiazina. Formulação pediátrica oral. Estabilidade. CLUE.

ABSTRACT

Sulfadiazine (SDZ) is one of the drugs used for the treatment of congenital toxoplasmosis, however the only commercially available oral formulation is the tablet (500 mg). One of the strategies to solve this problem is through the transformation of pharmaceutical forms. Thus, the present work aimed to prepare and evaluate the physical, chemical and microbiological stability of extemporaneous suspensions of SDZ (100 mg / mL) using tablets (FURP-Sulfadiazine). The suspension vehicles used were: A - 85% simple syrup and 1% (w/v) methylcellulose; and B - sorbitol 70%. Stability was evaluated during days 0, 7, 14 and 30 under storage at controlled temperatures of $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ and $22.5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2.5\text{ }^{\circ}\text{C}$. The physical characteristics analyzed were the organoleptic characteristics, the pH, the particle size and the viscosity. The concentration of SDZ was determined by a method developed and validated using ultra-high performance liquid chromatography (CLUE). Microbiological attributes of non-sterile pharmaceutical forms were also evaluated by adding p-aminobenzoic acid to the culture media in order to neutralize the antimicrobial activity of SDZ. pH and viscosity showed significant differences on study days. The particle size distribution was constant up to 14 days of study for both formulations. However, only the SDZ A suspension presented reliable results within the pharmacopoeial limits, probably influenced by the solubility of the active substance at different pH, particle sedimentation and viscosity reduction. In addition, during the study no microbial contamination was observed. Based on the results, it can be concluded that SDZ A suspension at room temperature is stable for 14 days and is a viable alternative for the pediatric treatment of congenital toxoplasmosis.

Keywords: Sulfadiazine. Pediatric oral formulation. Stability. CLUE.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mecanismo de ação das sulfonamidas.....	29
Figura 2 - Estrutura química da SDZ.....	31
Figura 3 – Distribuição das formas ionizadas e não-ionizada da SDZ conforme alteração de pH.....	32
Figura 4 - Gráfico de dispersão do peso dos comprimidos de SDZ.....	54
Figura 5 - Cromatograma do padrão de SDZ.....	55
Figura 6 - Cromatograma da suspensão de SDZ A submetida à degradação forçada ácida.....	56
Figura 7 - Cromatograma da suspensão de SDZ B submetida à degradação forçada oxidativa.....	56
Figura 8 - Curva analítica para a quantificação de SDZ em CLUE-DAD.....	58
Figura 9 - Gráfico de resíduos da regressão da curva analítica.....	61
Figura 10 - Inibição do crescimento de <i>S. aureus</i> na presença das suspensões de SDZ A e B em ágar caseína-soja.....	68
Figura 11 - Recuperação de <i>P. aeruginosa</i> na presença das suspensões de SDZ e PABA em ágar caseína-soja.....	68
Figura 12 - Valores de pH das suspensões de SDZ A e B em 5 °C e 22,5 °C durante 30 dias.....	72
Figura 13 - Valores de pH dos veículos A e B em 5 °C e 22,5 °C durante 30 dias...73	73
Figura 14 - Distribuição do tamanho de partícula nas suspensões de SDZ no período de 30 dias.....	76
Figura 15 - Partículas da suspensão de SDZ B após 30 dias de armazenamento em temperatura ambiente.....	77
Figura 16 - Variação da viscosidade das suspensões de SDZ A e B armazenadas em 5 °C e 22,5 °C durante trinta dias.....	78
Figura 17 - Variação da viscosidade dos veículos A e B armazenados em 5 °C e 22,5 °C durante trinta dias.....	79
Figura 18 - Estabilidade química das suspensões de SDZ A e B armazenadas em 5 °C e 22,5 °C durante trinta dias.....	81

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição das formulações.....	37
Tabela 2 - Alterações nos parâmetros analíticos para avaliação da robustez do método analítico para quantificação de SDZ em CLUE-DAD	44
Tabela 3 - Condições de crescimento dos microrganismos-testes para adequação do método de contagem microbiana na presença de SDZ	47
Tabela 4 - Critérios de aceitação para a estabilidade das formulações.....	50
Tabela 5 – Taxa de redução de teor de SDZ nas suspensões em condições de estresse.....	57
Tabela 6 – Avaliação da linearidade do método analítico para quantificação de SDZ em CLUE-DAD	59
Tabela 7 - Avaliação da homocedasticidade dos resíduos da regressão da curva analítica obtida para a quantificação de SDZ em CLUE-DAD.....	60
Tabela 8 – Avaliação da variância (ANOVA) dos resultados da regressão linear.....	60
Tabela 9 – Avaliação da precisão (repetibilidade) do método analítico para doseamento de SDZ por CLUE-DAD	62
Tabela 10 - Avaliação da precisão intermediária do método analítico para doseamento de SDZ por CLUE-DAD.....	63
Tabela 11 - Avaliação da exatidão do método analítico para doseamento de SDZ por CLUE-DAD	64
Tabela 12 - Avaliação da robustez do método analítico para doseamento de SDZ por CLUE-DAD	65
Tabela 13 - Resumo do estudo da validação do método analítico para quantificação de SDZ em CLUE-DAD	66
Tabela 14 – Tamanho do inóculo das diluições padronizadas dos microrganismos-testes utilizadas no estudo de adequação do método de contagem microbiana na presença de SDZ	67
Tabela 15 – Recuperação dos microrganismos testes em ágar caseína-soja e Sabouraud-dextrose na presença das suspensões de SDZ A e B.....	69
Tabela 16 - Densidade relativa das suspensões de SDZ A e B.....	80

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ACN	Acetonitrila
ATCC	American Type Culture Collection
C18	Coluna octadecilsilano
cP	CentiPoise
cSt	CentiStokes
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLUE	Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência
DAD	Detector de Arranjos de Fotoiodos
DP	Desvio Padrão
DPR	Desvio Padrão Relativo
FM	Fase móvel
FURP	Fundação para o Remédio Popular
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
mg	Miligrama
mL	Mililitro
NUPLAM	Núcleo de Pesquisa em Alimentos e Medicamentos
PABA	Ácido p-aminobenzóico
pH	Potencial Hidrogeniônico
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
SDZ	Sulfadiazina
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFRN	Universidade Federal do Rio Grande do Norte
USP	Farmacopeia Americana (do inglês <i>United States Pharmacopeia</i>)
UV	Ultravioleta
%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
g	Grama

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
2.1 MEDICAMENTOS PEDIÁTRICOS.....	18
2.2 SUSPENSÕES ORAIS.....	21
2.2.1 Propriedades físico-químicas das suspensões	21
2.2.2 Susceptibilidade microbiológica	24
2.3 EXCIPIENTES UTILIZADOS EM PEDIATRIA	24
2.3.1 Conservantes	25
2.3.2 Edulcorantes	26
2.3.3 Agentes suspensores	27
2.3.4 Veículos de suspensões comerciais	27
2.4 SULFADIAZINA.....	28
2.4.1 Mecanismo de ação	28
2.4.2 Indicações	29
2.4.3 Aspectos químicos	31
2.4.4 Aspectos farmacocinéticos.....	33
2.4.5 Transformação para uso pediátrico	33
3 OBJETIVOS	34
3.1 OBJETIVO GERAL	34
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
4 MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1 MATERIAIS	35
4.1.1 Insumos farmacêuticos e reagentes.....	35
4.1.2 Meios de cultura	35
4.1.3 Cepas	36

4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPRIMIDOS.....	36
4.3 PREPARO DAS FORMULAÇÕES LÍQUIDAS	36
4.2.1 Suspensão A	37
4.2.2 Suspensão B.....	37
4.4 MÉTODO DE DOSEAMENTO	38
4.4.1 Preparo da solução amostra	38
4.4.2 Preparo da solução padrão de SDZ	39
4.5 VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE DOSEAMENTO	39
4.5.1 Seletividade.....	39
4.5.2 Linearidade e Faixa de Trabalho.....	41
4.5.3 Limite de detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ).....	41
4.5.4 Precisão	42
4.5.5 Exatidão	43
4.5.6 Robustez	43
4.6 ADEQUAÇÃO DOS ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS	44
4.6.1 Preparo da suspensão microbiana e do inóculo padrão	45
4.6.2 Método de neutralização da atividade antimicrobiana.....	46
4.6.3 Recuperação dos microrganismos mesófilos por semeadura em profundidade	47
4.6.4 Pesquisa de <i>E. coli</i>	48
4.7 ESTUDO DE ESTABILIDADE.....	49
4.7.1 Estabilidade física	50
4.7.2 Estabilidade química	52
4.7.3 Estabilidade microbiológica.....	52
4.7.4 Análises estatísticas.....	53
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPRIMIDOS.....	54

5.2 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO	55
5.2.1 Seletividade.....	55
5.2.2 Linearidade e Faixa de Trabalho.....	58
5.2.3 LD e LQ.....	61
5.2.4 Precisão	62
5.2.5 Exatidão	63
5.2.6 Robustez	64
5.2.7 Resumo da validação.....	65
5.3 ADEQUAÇÃO DOS ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS	66
5.4 ESTUDO DE ESTABILIDADE.....	70
5.4.1 Estabilidade física	70
5.4.2 Estabilidade química	80
5.4.3 Estabilidade microbiológica.....	82
5 CONCLUSÕES	84
REFERÊNCIAS.....	85

1 INTRODUÇÃO

Desde 1968, pacientes pediátricos (lactentes e crianças) são denominados “órfãos terapêuticos” (SHIRKEY, 1968), devido ao reduzido arsenal terapêutico destinado a eles. Apesar de todos os esforços para mudar esse cenário, ainda são muitas as necessidades, inclusive abrangendo doenças negligenciadas que não despertam interesse da indústria farmacêutica, constituindo assim um problema de saúde pública (MARINHO; CABRAL, 2014).

A toxoplasmose congênita, por exemplo, ocorre quando a mãe adquire a infecção primária pelo protozoário *Toxoplasma gondii* durante a gestação, transmitindo, portanto, verticalmente a infecção para o feto. A incidência de casos de toxoplasmose congênita no Brasil varia de 4 até 13 casos por 10000 nascidos vivos entre as regiões do país (BICHARA et al., 2012; BISCHOFF et al., 2016; CARELLOS et al., 2014a; INAGAKI et al., 2012). A maioria das crianças com toxoplasmose congênita são assintomáticas ao nascimento, mas podem apresentar sequelas tardias, como hepatoesplenomegalia, danos nos olhos, no coração, no cérebro e graves anomalias congênitas, até mesmo morte fetal (CAPOBIANGO et al., 2014; SINGH, 2016).

A Sulfadiazina (SDZ), desenvolvida na década de 1930, é um dos três fármacos utilizados no tratamento da toxoplasmose. Praticamente insolúvel em água (BRASIL, 2010b), não é disponível em forma farmacêutica líquida de fácil administração, apenas como comprimidos de 500 mg, dose convencional para adultos, dificultando tratamento desse grupo específico (GLASS; HAYWOOD, 2006).

Atualmente, a melhor forma encontrada pelos profissionais de saúde, para resolver a carência de medicamentos na forma farmacêutica líquida é através do preparo de adaptações farmacêuticas, geralmente através da clivagem ou trituração de comprimidos, abertura de cápsulas ou diluição de líquidos orais de concentrações superiores. Para realizar o tratamento de pacientes pediátricos, como recém-nascidos e lactentes, acometidos por toxoplasmose congênita, é necessário preparar uma adaptação farmacêutica líquida (GONÇALVES; CAIXETA; REIS, 2009; MARINHO; CABRAL, 2014; PEREIRA et al., 2016), normalmente triturando-se o comprimido de SDZ e administrando o pó junto a quantidade suficiente de água.

Entretanto, a estabilidade precisa ser considerada e testada (VAN DER VOSSSEN et al., 2017). A ausência de informação a respeito da estabilidade das preparações é o maior problema com o preparo de formulações líquidas, pois nenhum doseamento ou controle de estabilidade é realizado em farmácias de manipulação e hospitalares para cada formulação preparada (SANTOVEÑA, A.; HERNÁNDEZ-PAIZ; FARIÑA, 2012).

Por essas razões, o preparo dessas formulações é um desafio e diversos estudos estão sendo realizados na área informando dados científicos que garantem a estabilidade de soluções ou suspensões orais em condições de armazenamento estabelecidas. Benzonidazol (GARCÍA; MANZO; JIMENEZ-KAIRUZ, 2015), glibenclamida (ESTEVEZ et al., 2016), anlodipino (VAN DER VOSSSEN et al., 2016) e atorvastatina (ZAID et al., 2017) são alguns exemplos. Além disso, a estabilidade microbiológica também é um problema crítico em formulações orais extemporâneas pediátricas, devido à restrição do uso de conservantes potencialmente tóxicos e alérgenos (SALGADO et al., 2005).

As formulações de SDZ disponíveis na literatura com estabilidade adequadas utilizam matéria-prima e veículos de suspensão comerciais prontos que aumentam o custo do medicamento (ALLEN JR., 2011; FERREIRA et al., 2016), não sendo uma alternativa economicamente viável para o âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS) no Brasil nem para outros países de maior incidência da toxoplasmose.

Dessa forma, considerando que o SUS disponibiliza comprimidos de SDZ (500 mg) através do Componente Estratégico da Assistência Farmacêutica, foi realizado levantamento bibliográfico e foram escolhidas duas formulações de SDZ com veículos simples presentes na literatura (SOUZA, 2003). Estas formulações foram preparadas com comprimidos de SDZ como fonte de matéria-prima para investigar a estabilidade física, química e microbiológica em diferentes temperaturas de armazenamento, a fim de fornecer resultados confiáveis e permitir o tratamento eficaz e seguro das crianças acometidas com toxoplasmose congênita.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 MEDICAMENTOS PEDIÁTRICOS

Os recém-nascidos e crianças apresentam uma variabilidade fisiológica ao longo do seu desenvolvimento que interfere na farmacocinética e farmacodinâmica dos princípios ativos e, conseqüentemente, no tratamento farmacológico, uma vez que a maioria dos medicamentos são desenvolvidos e testados em adultos e as respostas no público pediátrico podem apresentar-se diferentemente do esperado (FERNANDEZ et al., 2011).

A dificuldade de deglutição é um problema comum entre pacientes pediátricos (ZAID et al., 2017), inclusive crianças menores de sete anos de idade são consideradas inaptas (WALCH et al., 2016). Dessa forma, as formas farmacêuticas líquidas orais, especialmente soluções e suspensões, são consideradas as formas padrão para estes pacientes (LAJOINIE et al., 2016; LIU et al., 2015; RIET-NALES et al., 2016). Soluções, xaropes e suspensões apresentam como vantagens maior flexibilidade na dose, facilidade de ingestão e administração (LIU et al., 2015; SAM et al., 2012). Ademais, estas formulações permitem o ajuste da dose individualizada em mg/kg de peso corporal, reduzindo potenciais erros de dose e melhorando a adesão ao tratamento (NAHATA, M. C.; ALLEN JR., 2008).

Entretanto, somente uma pequena parcela dos fármacos está disponível em formulações líquidas apropriadas para administração em crianças (GLASS; HAYWOOD, 2006; RIET-NALES et al., 2016). Sendo assim, o grande arsenal terapêutico é constituído de formas farmacêuticas sólidas em doses destinadas à população adulta, dificultando o tratamento de não somente neonatos, lactentes e crianças, mas de qualquer paciente com dificuldade de deglutição, pacientes portadores de sondas (nasogástrica, nasoenteral ou gastrostomia) e pacientes que necessitam de doses não padronizadas (GLASS; HAYWOOD, 2006). Logo, a carência de medicamentos adequados ao uso pediátrico trata-se de um problema contínuo para os profissionais de saúde na prática clínica (COSTA; COELHO; REY, 2009; COSTA; LIMA; COELHO, 2009; PEREIRA et al., 2016), sendo necessário buscar estratégias para solucioná-lo.

Nahata (1999) considerou que a alternativa mais indicada é a manipulação de formulações extemporâneas com o uso de excipientes apropriados a partir da matéria-prima ou inclusive das formas farmacêuticas disponíveis. No Brasil, foi identificado uma alta prevalência quanto ao uso de preparações magistrais extemporâneas em unidades de internamento pediátrico (BRITTO et al., 2017). Segundo Lajoinie et al., (2016), 73% das transformações de formas farmacêuticas solicitadas eram destinadas para lactentes em um hospital pediátrico francês.

Na prática, devido à conveniência e à maior disponibilidade nas farmácias hospitalares, cápsulas ou comprimidos são frequentemente usados como fonte de matéria-prima (GLASS; HAYWOOD, 2006; HAYWOOD; GLASS, 2013). Entretanto, essas formas farmacêuticas sólidas são fabricadas com diversos excipientes que promovem diluição, fluxo, desintegração, corantes, dentre outras funções. Logo, os excipientes presentes nesses produtos são também introduzidos nas formulações manipuladas e a estabilidade da formulação líquida preparada é determinada pela interação física e química entre o princípio ativo, os excipientes da forma farmacêutica original e o veículo, podendo resultar em interações físico-químicas ainda desconhecidas (MUSKO; SZNITOWSKA, 2013). Na maioria dos casos, realiza-se a adaptação da forma farmacêutica através da clivagem e/ou trituração de comprimidos, abertura de cápsula, diluição de líquidos orais disponíveis em maiores concentrações ou de preparações injetáveis (MARINHO; CABRAL, 2014; NISSEN; HAYWOOD; STEADMAN, 2009).

De uma forma geral, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) conceitua esta prática como transformação de forma farmacêutica, através da RDC nº 67, de 8 de outubro de 2007. Conforme a RDC, transformação de forma farmacêutica ou derivação é a “manipulação de especialidade farmacêutica visando ao preparo de uma forma farmacêutica a partir de outra”, sendo justificada desde que se destine a “atender as necessidades terapêuticas exclusivas de pacientes em atendimento nos serviços de saúde”. Caso não existam recomendações específicas do fabricante da forma farmacêutica ou de literatura científica, o período de uso considerado é de apenas 48 horas (BRASIL, 2007). Logo, estudos de estabilidade precisam ser desenvolvidos para proporcionar maior tempo de validade à essas preparações.

A forma farmacêutica líquida selecionada para manipulação pode ser uma solução ou uma suspensão, dependendo das características físico-químicas do fármaco em particular, bem como da forma farmacêutica sólida a ser utilizada (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2007). Conforme Ferreira e Souza (2011), deve-se considerar que as preparações orais líquidas obtidas a partir do pó de comprimidos e cápsulas devem ser exclusivamente preparadas na forma de suspensões, especialmente pela presença de excipientes presentes nas formas farmacêuticas sólidas geralmente insolúveis em meio aquoso.

Durante o preparo de suspensões a partir de comprimidos ou cápsulas deve-se considerar alguns critérios importantes: solubilidade e estabilidade da substância ativa, pH e composição do veículo e proteção antimicrobiana (BENZI; MASTROIANNI, 2016; SOSNOWSKA; WINNICKA; CZAJKOWSKA-KOŚNIK, 2009). Na maioria dos casos, o farmacêutico prepara formulações extemporâneas líquidas orais com o ingrediente ativo dissolvido ou suspenso em xarope simples ou em mistura de sorbitol (GLASS; HAYWOOD, 2006), que podem ser administrados em gotas, colher ou seringa dosadora.

Entretanto, para preparar uma transformação de forma farmacêutica, a solubilidade, a estabilidade e a biodisponibilidade do fármaco devem ser avaliadas caso a caso, inclusive devido a presença de excipientes da forma farmacêutica - fonte da matéria-prima (NISSEN; HAYWOOD; STEADMAN, 2009). Logo, não é recomendado que este tipo de adaptação seja realizado nas enfermarias, mas que seja avaliada e preparada por um farmacêutico com conhecimento na área para minimização de possíveis erros (COSTA; LIMA; COELHO, 2009; GONÇALVES; CAIXETA; REIS, 2009; NAHATA, M. C.; ALLEN JR., 2008; NISSEN; HAYWOOD; STEADMAN, 2009). Em um estudo observacional na Malásia, constatou-se que o preparo incorreto de fármacos na enfermaria foi um dos erros de administração de medicamentos mais comuns em hospitais pediátricos, representando 26% das doses analisadas (CHUA; CHUA; OMAR, 2010).

Além disso, a degradação de uma preparação oral líquida devido à instabilidade química, física ou microbiológica pode ocasionar uma dose subterapêutica, exposição à produtos de degradação tóxicos ou ingestão de um número exacerbado de microrganismos (FERREIRA; SOUZA, 2011). Logo, esta

prática exige cautela, uma vez que a instabilidade das preparações líquidas é o ponto mais crítico de uma formulação e a ausência de informações sobre a estabilidade do fármaco apresenta-se como uma limitação para a prática (SANTOVEÑA, A.; HERNÁNDEZ-PAIZ; FARIÑA, 2012).

2.2 SUSPENSÕES ORAIS

Suspensões são geralmente formas farmacêuticas para administração de fármacos pouco solúveis em água (ESTEVEZ et al., 2016). Trata-se de uma dispersão grosseira na qual partículas sólidas, insolúveis e finamente divididas (geralmente maiores que 1 μm de diâmetro), encontram-se dispersas em um meio líquido (AULTON, 2005).

Diversos produtos farmacêuticos, em particular os destinados a crianças, são apresentados como suspensões. Entretanto, apresentam potenciais desvantagens relacionadas à estabilidade física, química e microbiológica; à solubilidade do fármaco em questão (requerendo o uso de tampões de pH, co-solventes); ao tempo de validade reduzido; e ao uso de numerosos excipientes, particularmente conservantes (LIU et al., 2015; SAM et al., 2012).

2.2.1 Propriedades físico-químicas das suspensões

Algumas propriedades físico-químicas (tamanho das partículas, velocidade de sedimentação, viscosidade, pH) devem ser consideradas em uma suspensão farmacêutica a fim de obter uma formulação que assegure a eficácia, segurança e estabilidade do medicamento.

2.2.1.1 Tamanho das partículas dispersas

As partículas da fase dispersa de uma suspensão podem apresentar diversos tamanhos, caracterizando o tipo de suspensão. Quando as partículas possuem tamanho entre 10 a 50 μm , são conhecidas como dispersões grosseiras; entre 0,5 a

10 µm como dispersões finas; e quando apresentam dimensões abaixo de 0,5 µm como dispersões coloidais (AULTON, 2005).

O tamanho da partícula é um dos parâmetros mais importantes na estabilidade física de suspensões (GENNARO, 2004). O tamanho da partícula em suspensão deve permanecer constante por longos períodos. Partículas de maior diâmetro tendem a se separar mais do meio dispersante. Portanto, a redução do tamanho das partículas é desejável para evitar possível cristalização de partículas maiores, característica de uma suspensão instável, bem como sedimentação destas. Todavia, deve-se evitar redução demasiada, uma vez que partículas muito finas tendem a formar sedimentos compactos no fundo do recipiente (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2007).

Além do ponto de vista farmacotécnico, o tamanho de partícula é de fundamental importância no que diz respeito à absorção de fármacos com baixa solubilidade. Partículas com menor tamanho apresentam maior velocidade de dissolução, sendo mais rapidamente absorvidas (FLORENCE; ATTWOOD, 2011).

2.2.1.2 Velocidade de sedimentação

Os problemas que normalmente surgem em suspensões incluem sedimentação, formação de sedimento compacto ou caking, floculação e crescimento de partículas através da dissolução e recristalização (FLORENCE; ATTWOOD, 2011), implicando na instabilidade física das suspensões. Inclusive, deve haver instrução para que o medicamento seja agitado antes do uso para se obter distribuição uniforme das partículas no veículo e assim uniformizar o conteúdo com a quantidade apropriada da substância ativa (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2007).

A lei de Stokes apresenta as variáveis que influenciam na velocidade de sedimentação das partículas de uma suspensão, conforme apresentado abaixo,

$$\frac{dx}{dt} = \frac{d^2 \times (p^1 - p) \times g}{18 \eta}$$

onde $\frac{dx}{dt}$ é a velocidade de sedimentação, d é o diâmetro das partículas, p^1 e p são as densidades da partícula e do meio, respectivamente, g é a constante gravitacional e η é a viscosidade do meio (GENNARO, 2004).

Ela é baseada em uma situação ideal em que as partículas uniformes e perfeitamente esféricas de uma suspensão bem diluída se depositam sem ocorrer colisão das partículas suspensas; e atração, afinidade química ou física pelo meio dispersante (FLORENCE; ATTWOOD, 2011). Porém, mesmo em suspensões não ideais, ela fornece orientações para ajustes que podem ser feitos na formulação para diminuir a velocidade de sedimentação das partículas.

Quanto maior for o tamanho da partícula, maior será a velocidade de sedimentação. A velocidade de sedimentação também aumentará, quando aumentar a densidade de partícula (desde que a densidade do veículo se mantenha constante). Em contraste, o aumento da viscosidade reflete na redução da velocidade de sedimentação (ALLEN JR, 1998).

2.2.1.5 Viscosidade

Outro fator físico-químico importante é o comportamento reológico das suspensões, uma vez que ele determinará a facilidade que o medicamento pode ser retirado do frasco. Segundo Aulton (2005), a viscosidade de um fluido pode ser descrita simplesmente como sua resistência ao fluxo ou movimento, podendo ser expressa como viscosidade absoluta ou dinâmica (η) e como viscosidade cinemática ($\mu = \eta/d$), em que d é a densidade do meio.

Uma suspensão farmacêutica ideal deve ter viscosidade aparente elevada e baixas tensões de cisalhamento para que as partículas suspensas possam sedimentar lentamente. É importante destacar que as características de viscosidade de uma suspensão podem ser alteradas não apenas pelo veículo usado, mas também pelo conteúdo de sólidos. À medida que a proporção de partículas sólidas aumenta numa suspensão, sua viscosidade também aumenta (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2007).

2.2.1.6 pH

Fármacos em preparações líquidas podem estar mais susceptíveis a reações químicas de degradação, como as de hidrólise, oxidação e redução. Normalmente, o pH é o parâmetro mais importante a afetar a velocidade da reação de degradação de formulações líquidas. Inclusive, a degradação hidrolítica, oxidativa e fotolítica de alguns fármacos é dependente do pH (GHULAM et al., 2007).

2.2.2 Susceptibilidade microbiológica

A estabilidade microbiológica de preparações líquidas também deve ser controlada devido a elevada quantidade de água presente na formulação que favorece o crescimento de microrganismos. O crescimento microbiano pode causar alterações nas características organolépticas (odor, sabor, aparência), bem como ser perigosa para a saúde devido a possível ingestão de microrganismos ou medicamentos degradados (inativos ou tóxicos), principalmente em crianças. Além disso, a presença de microrganismos e/ou seus metabólitos podem afetar a estabilidade química da preparação e alterar a solubilidade do fármaco, devido alteração do pH (GHULAM et al., 2007; SALGADO et al., 2005).

Para minimizar os riscos de contaminação microbiana na preparação de uma formulação oral líquida deve-se utilizar equipamentos e vidrarias limpos e sanitizados, água purificada e/ou outros veículos com qualidade microbiológica adequados e evitar o uso de matérias-primas e embalagens contaminadas. Segundo Ghulam et al. (2007), a refrigeração diminui a taxa de crescimento microbiano quando comparado a temperatura ambiente, entretanto não erradica a presença de microrganismos ou de seus produtos.

2.3 EXCIPIENTES UTILIZADOS EM PEDIATRIA

Excipientes ou ingredientes inertes são substâncias adicionadas aos compostos farmacologicamente ativos para permitir a produção da forma farmacêutica, aumentar a estabilidade do fármaco e a palatabilidade da formulação

para o paciente (FERREIRA, 2010). Eles podem ser os responsáveis por inúmeras reações adversas a medicamentos (SILVA, A. V. A. et al., 2008).

As formulações pediátricas atuais contêm diversos excipientes que melhoram a palatabilidade e a solubilidade, proporcionando aceitação e adesão ao tratamento, porém aumentando também o risco de reações adversas (VAN DER VOSSSEN et al., 2017). Uma suspensão líquida para um neonato não deve conter conservantes, corantes, flavorizantes ou álcool, devido ao potencial que apresentam de causar efeitos adversos a curto ou longo prazo. O propilenoglicol, por exemplo, é comumente usado como solvente em medicamentos orais, tópicos e injetáveis, para solubilizar fármacos com limitada solubilidade em água. Todavia, a dose máxima diária segura para neonatos de até 28 dias é de apenas 1 mg/kg, não sendo recomendados para crianças menores de 4 anos de idade (CHMP, 2014).

Segundo Haywood e Glass (2013), a adequação do excipiente deve ser considerada na preparação de um líquido oral extemporâneo, pois eles podem afetar a estabilidade do fármaco, assim como alterar o pH da formulação. Em um estudo de base hospitalar no Estado do Ceará (Brasil), foi verificado que em 75,63% das adaptações analisadas, o veículo indicado na prescrição era inadequado (COSTA; LIMA; COELHO, 2009). Dessa forma, faz-se necessário analisar adequadamente os excipientes aptos a formulações pediátricas e proporcionar uma composição preferencialmente simples, mesmo que para atender a poucos dias de tratamento (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2007).

2.3.1 Conservantes

Conservantes são adicionados em preparações farmacêuticas a fim de prolongar a estabilidade e/ou manter sua esterilidade. O uso de conservantes, como metilparabeno, propilparabeno, benzoato de sódio, cloreto de benzalcônio, deve ser cuidadosamente avaliado em pediatria devido aos frequentes problemas toxicológicos relatados em crianças (SALGADO et al., 2005; SILVA, A. V. A. et al., 2008).

Soluções de sacarose concentradas são resistentes à contaminação, pois proporcionam uma pressão osmótica adequada à inibição do crescimento microbiano,

além da indisponibilidade de água necessária para o crescimento dos microrganismos, e por isso são ótimos veículos auto conservantes para formulações (AULTON, 2005). O xarope simples do Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira (solução de sacarose 85%, p/v) (BRASIL, 2012) contém apenas um leve excesso de água (cerca de 3,8 mL em 100 mL) que garante a estabilidade física do xarope quando submetido a variações de temperatura, evitando fenômenos de precipitação (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2007).

2.3.2 Edulcorantes

A preferência pelo sabor doce é inata nos seres humanos, sendo ainda mais pronunciada em crianças. A concentração total de edulcorantes em soluções e suspensões orais varia dentro de uma faixa de 30-80% (p/v) (FERREIRA; SOUZA, 2011).

A sacarose é o açúcar empregado na maioria dos xaropes, entretanto, em circunstâncias especiais, pode ser substituída completamente ou em parte por outros açúcares ou substâncias como o sorbitol (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2007). A sacarose tem a vantagem de ser incolor, bastante hidrossolúvel, estável em uma faixa de pH de 4 a 8 e, por aumentar a viscosidade de preparações fluidas, confere uma textura agradável ao paladar (AULTON, 2005; ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2007). A concentração usual é de até 85% (FERREIRA, 2010).

O sorbitol também tem poder edulcorante e pode ser incluído em preparações para diabéticos, nas quais a sacarose seja indesejada (AULTON, 2005). A sua concentração de uso pode variar entre 20 até 70% (FERREIRA, 2010). Trata-se de um açúcar não digerível; é hidrolisado no intestino grosso em ácidos graxos de cadeia curta, assim, eles estimulam a motilidade do colo por atraírem osmoticamente a água para o lúmen intestinal (HILAL-DANDAN; BRUNTON, 2015). Por isso, tem sido associado a relatos de desconforto abdominal e flatulência (PAYNE; CRAIG; WILLIAMS, 1997; SILVA, A. V. A. et al., 2008).

2.3.3 Agentes suspensores

Em muitas suspensões, agentes suspensores são adicionados para aumentar a viscosidade da fase dispersante. Carboximetilcelulose e metilcelulose são alguns dos poucos agentes empregados para espessar a fase dispersante e auxiliar na manutenção das partículas em suspensão juntamente com um xarope (NAHATA, M. C.; ALLEN JR., 2008). Para formas farmacêuticas líquidas extemporâneas, metilcelulose 1% (p/v) é comumente adicionado como um agente suspensor para melhorar a uniformidade de dose e a estabilidade física (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2007).

2.3.4 Veículos de suspensões comerciais

A preparação de formulações extemporâneas orais pode ser simplificada com o uso de veículos comerciais prontos. O laboratório Perrigo Company® produz uma linha de veículos orais que prometem formar suspensões elegantes, uniformes e fisicamente estáveis. São conhecidos no mercado como produtos Ora® (Ora-Plus®, Ora-Sweet®, Ora-Sweet SF®, Ora-Blend®, Ora-Blend SF®). Os veículos são tamponados com ácido cítrico e fosfato de sódio a um pH ligeiramente ácido e possuem parabeno e sorbato de potássio como conservantes (PERRIGO, 2018). Estudos de estabilidade de preparações extemporâneas de diferentes princípios ativos já utilizaram esses veículos e apresentaram resultados satisfatórios (FRICIU et al., 2016; LEWIS et al., 2017; LI et al., 2016).

A Fragon® também possui linhas de produtos para veiculação de medicamentos orais, como a linha SyrSpend SF® com tecnologia de suspensão ativa à base de amido de milho modificado. Essa linha não contém açúcar, álcool, lactose, nem glúten e são adoçados com sucralose. São tamponados a um pH de 4,2 (FRAGON, 2018). Diversas formulações já foram cientificamente estudadas quanto à estabilidade química, física e microbiológica com bons resultados (FERREIRA et al., 2016).

Embora esses veículos prontos para uso, preservados com conservantes, estejam comercialmente disponíveis no mercado, eles não são os candidatos ideais

para formulações pediátricas, uma vez que a quantidade de excipientes presentes deve ser a mínima necessária para manter a qualidade do produto. Além disso, nem sempre veículos de suspensão comerciais são compatíveis com os fármacos ou com os componentes presentes nas formas farmacêuticas (comprimidos ou cápsulas) (MUSKO; SZNITOWSKA, 2013). Logo, ainda é comum a prática nas farmácias de manipulação de preparar suas formulações em bases simples, como o xarope simples (GLASS; HAYWOOD, 2006).

2.4 SULFADIAZINA

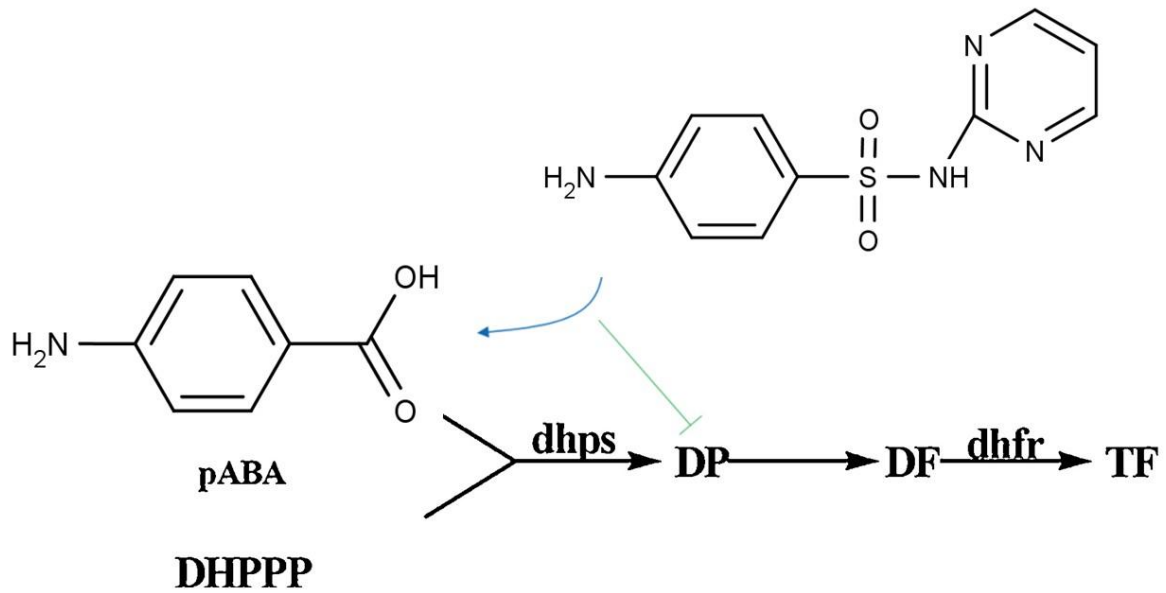
Sulfadiazina (SDZ) é um antimicrobiano sintético, pertencente ao grupo das sulfonamidas, eficaz desde que foi sintetizada nos anos 1930.

2.4.1 Mecanismo de ação

As sulfonamidas agem por antagonismo metabólico, pois são análogos estruturais do ácido p-aminobenzóico (PABA). A semelhança estrutural está na porção sulfanilamida. Elas são inibidores competitivos da di-hidropteroato-sintase, a enzima bacteriana responsável pela incorporação do PABA ao ácido hidropteroico, o precursor imediato do ácido fólico (HILAL-DANDAN; BRUNTON, 2015). Assim, formam análogos não funcionais do ácido fólico, interferindo na produção das purinas e na síntese final dos ácidos nucleicos, impedindo o crescimento dos microrganismos (Figura 1).

Logo, devido ao seu mecanismo de ação, apenas os microrganismos que produzem seu próprio ácido fólico são sensíveis às sulfonamidas (DMITRIENKO et al., 2014). Entretanto, quando há excesso de PABA ou a presença de pus ou produtos de degradação tecidual, a ação bacteriostática é interrompida, pois a presença de timidina e purinas possibilita a síntese de ácidos nucleicos (PETRI JUNIOR, 2012).

Figura 1 – Mecanismo de ação das sulfonamidas



Fonte: Adaptado de Qin et al. (2016)

DHPP: 7,8-dihidro-6-hidroximetilpterino-fosfato; dhps: di-hidropteroato sintetase; PABA: ácido p-aminobenzóico; DP: di-hidropteridina; DF: di-hidrofolato; dhfr: di-hidrofolato redutase; TF: ácido tetra-hidrofólico.

2.4.2 Indicações

As sulfonamidas atuam como agentes bacteriostáticos e possuem atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivas e gram-negativas e alguns protozoários que sintetizam o próprio ácido fólico (DMITRIENKO et al., 2014). A SDZ combinada com a pirimetamina é ativa contra o parasita *Toxoplasma gondii*. A ação sinérgica bloqueia etapas sequenciais da via de síntese do folato, fazendo parte do protocolo terapêutico da toxoplasmose no Brasil (BRASIL, 2011).

2.4.2.1 Toxoplasmose congênita

A toxoplasmose é uma zoonose cosmopolita causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, parasita obrigatório intracelular, infectante para diversos

mamíferos (MCAULEY, 2014). A porcentagem de infectados é variável, pois depende das condições climáticas e do desenvolvimento social e econômico do local, uma vez que estes parâmetros influenciam hábitos alimentares e higiênicos (DUBEY et al., 2012).

Os felinos (gatos) são os hospedeiros definitivos para os estágios de reprodução sexuada do *T. gondii*. O parasita apresenta três estágios: taquizoítos (trofozoítos), os quais rapidamente se proliferam e destroem células infectadas durante a infecção aguda; bradizoítos, os quais multiplicam-se em cistos teciduais; e esporozoítos no interior dos oocistos (MCAULEY, 2014).

Há três principais formas de transmissão de *T. gondii*: ingestão de alimento ou água contaminada com fezes de gato contendo oocistos do parasita, ingerir carne malcozida contendo cistos do parasita no tecido e através da placenta, da mãe para o feto. A infecção congênita pode ocorrer quando uma mãe não infectada adquire a infecção primária durante a gestação, mas pode ocasionalmente resultar também de uma reativação latente em gestantes (KAYE, 2011; RAJAPAKSE et al., 2013).

No Brasil, a soroprevalência de *T. gondii* varia em diferentes regiões do território, apresentando uma média de 40% de gestantes susceptíveis a toxoplasmose (FEREZIN; BERTOLINI; DEMARCHI, 2013; MOURA et al., 2013; SILVA, M. G.; VINAUD; CASTRO, 2015). Inclusive Barbosa, Holanda e Andrade-Neto (2009) identificaram que cerca de 33% das gestantes são vulneráveis à infecção primária durante a gestação em Natal, capital do Rio Grande do Norte.

A incidência de casos de toxoplasmose congênita no Brasil varia de 4 até 13 casos por 10000 nascidos vivos entre as regiões do país (BICHARA et al., 2012; BISCHOFF et al., 2016; CARELLOS et al., 2014b; INAGAKI et al., 2012), com altas taxas de casos sintomáticos (79,2%) (BISCHOFF et al., 2016).

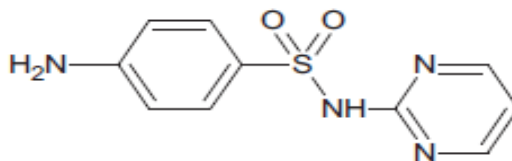
A maioria das crianças com toxoplasmose congênita é assintomática ao nascimento, mas pode apresentar sequelas tardias, como hepatoesplenomegalia, problemas oftalmológicos, cardíacos, neurológicos e graves anomalias congênitas, chegando até mesmo morte fetal. A gravidade depende da época da gestação em que ocorreu a transmissão congênita, a infecção no primeiro trimestre pode implicar em sequelas mais graves (CAPOBIANGO et al., 2014; SINGH, 2016).

Após o nascimento, sugere-se iniciar o tratamento imediatamente em neonatos com toxoplasmose adquirida na gestação (comprovada, provável ou suspeita). Os fármacos recomendados para o tratamento da toxoplasmose congênita são sulfadiazina e pirimetamina (antifolatos), considerado o melhor regime terapêutico estabelecido (RAJAPAKSE et al., 2013), associado ao ácido folínico, utilizados de forma continuada durante 12 meses, para casos confirmados ou que não foi possível a exclusão da infecção, independente da presença de sinais e/ou sintomas da doença. A dose de SDZ preconizada é de 100 mg/kg/dia divididos em duas doses diárias (BRASIL, 2011).

Como medida de garantia do acesso, a SDZ pertence à Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) e está disponível no Sistema Único de Saúde (SUS) através do Componente Estratégico da Assistência Farmacêutica na forma farmacêutica de comprimido (500 mg) (BRASIL, 2017). Para tratamento pediátrico, o Ministério da Saúde recomenda produzir soluções em farmácias de manipulação (BRASIL, 2011).

2.4.3 Aspectos químicos

Figura 2 - Estrutura química da SDZ

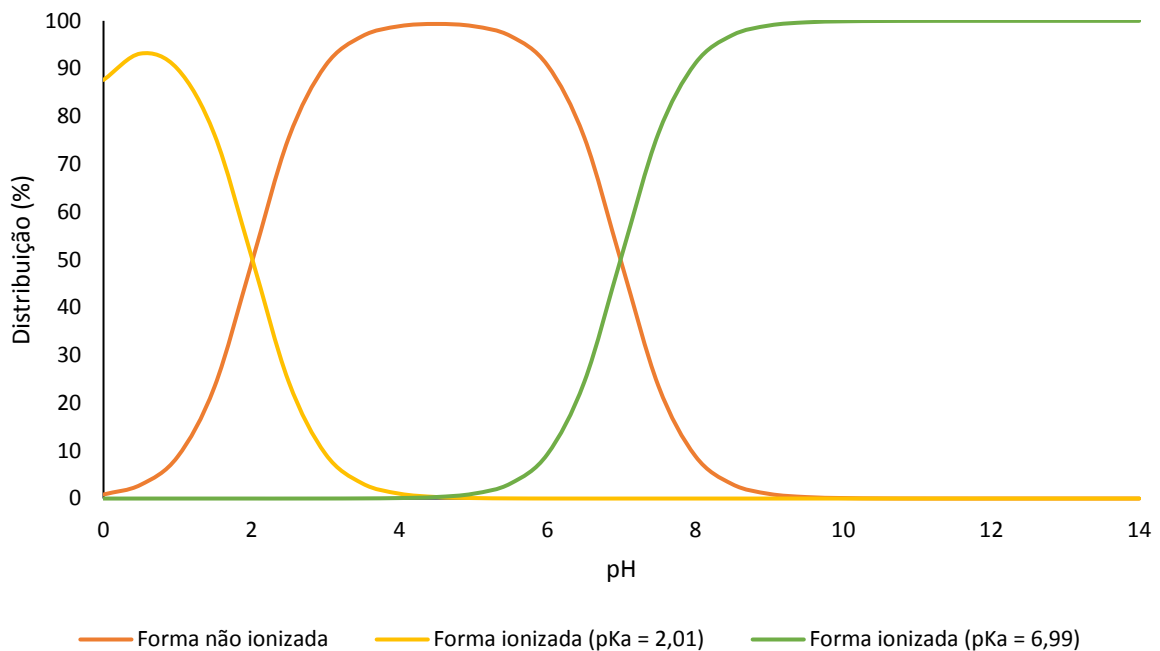


Fonte: O autor.

A SDZ possui fórmula molecular $C_{10}H_{10}N_4O_2S$ com massa molar de 250,28 g/mol (Figura 2). Caracteriza-se como um pó branco ou branco-amarelado, inodoro, fotossensível, praticamente insolúvel em água, muito pouco solúvel em etanol e acetona e insolúvel em clorofórmio (BRASIL, 2010b).

A SDZ, assim como o grupo das sulfonamidas, apresenta dois grupos ionizáveis: um grupo amina aromático básico e um grupo amida ácido. Os valores de pK_a da SDZ são 2,01 e 6,99, logo ela apresenta uma forma neutra em $2,01 < pH < 6,99$. Em $pH < 2,01$, o grupo amina é capaz de receber um próton, enquanto o grupo amida pode liberar um próton em um $pH > 6,99$ (ACOSTA-RANGEL et al., 2018). Dessa forma, em pH inferior a 2,01 e superior a 6,99, a SDZ (forma ionizada) encontra-se mais solúvel no meio. A Figura 3 apresenta a distribuição das espécies conforme alteração de pH do meio.

Figura 3 – Distribuição das formas ionizadas e não-ionizada da SDZ conforme alteração de pH



Fonte: Adaptado do Marvin Sketch 6.1

A hidrossolubilidade da SDZ é muito baixa (0,074 mg/mL) (DELRIVO; ZOPPI; LONGHI, 2012) e é considerada praticamente insolúvel, o que conseqüentemente, afeta a sua biodisponibilidade. Ademais, também apresenta baixa permeabilidade, portanto, pertence à classe IV do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (baixa solubilidade e baixa permeabilidade) (FERREIRA, 2010). Além disso, apresenta log P igual a -0,09 (BIAŁK-BIELIŃSKA et al., 2012).

2.4.4 Aspectos farmacocinéticos

Administrada por via oral, a SDZ é rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal alcançando concentrações sanguíneas máximas em 3 a 6 horas. Aproximadamente 55% do fármaco liga-se às proteínas plasmáticas. Assim como as demais sulfonamidas, é metabolizada no fígado, apresentando a sulfonamida N4-acetilada como o principal derivado metabólico, sem atividade antimicrobiana. É rapidamente excretada pelo rim, seja na forma livre ou na acetilada (HILAL-DANDAN; BRUNTON, 2015).

2.4.5 Transformação para uso pediátrico

A SDZ é comercializada apenas sob a forma farmacêutica sólida de comprimidos (500 mg) e para permitir o tratamento do público pediátrico é necessário realizar a transformação de forma farmacêutica. Estudos de base hospitalar indicaram que este antimicrobiano tem sido transformado de comprimido para suspensão oral e papel medicamentoso (BRITTO et al., 2017; GONÇALVES; CAIXETA; REIS, 2009; MARINHO; CABRAL, 2014; PEREIRA et al., 2016).

Em 2004, o primeiro estudo de estabilidade de preparações líquidas orais de SDZ a partir de comprimidos foi realizado com água para injetáveis e a formulação preparada perdeu quantidade superior a 10% em menos de 2 dias em temperatura ambiente (PATHMANATHAN et al., 2004). Portanto, a transformação usando água como veículo não garante eficácia no tratamento, pois a perda no teor gera doses subterapêuticas acarretando piora do quadro clínico. Outros estudos já foram realizados com matéria-prima de SDZ e suspensões comerciais como veículos. A formulação usando uma mistura de Ora-Plus e Ora-Sweet (1:1) se manteve estável por 60 dias em refrigeração e em temperatura ambiente (LOYD JR, 2011), enquanto se manteve estável por 120 dias em SyrSpend® SF PH4 como veículo (FERREIRA et al., 2016). No entanto, essas suspensões orais por apresentarem valor relativamente elevado, não representam uma alternativa ao SUS. É necessário buscar novas alternativas que não onerem o tratamento e que apresentem estabilidade, segurança e eficácia.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Preparar adaptações farmacêuticas de sulfadiazina, a partir de comprimidos, com composição e processo de preparo simples, e realizar o estudo de estabilidade dessas formulações em diferentes temperaturas de armazenamento durante 30 dias.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar adaptações farmacêuticas de sulfadiazina empregando veículos simples e de baixo custo;
- Desenvolver e validar método analítico para avaliação de teor de sulfadiazina nas adaptações por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (CLUE);
- Realizar adequabilidade dos métodos microbiológicos para as transformações;
- Realizar o estudo de estabilidade física, química e microbiológica dessas adaptações farmacêuticas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Controle de Qualidade do Núcleo de Pesquisa em Alimentos e Medicamentos (NUPLAM) em parceria com o Laboratório de Controle de Qualidade de Medicamentos (LCQMed) da Faculdade de Farmácia, ambos da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN).

4.1 MATERIAIS

4.1.1 Insumos farmacêuticos e reagentes

Os comprimidos de SDZ (500 mg) foram fornecidos e fabricados pela FURP (Fundação para o Remédio Popular), lote 150549. Além do princípio ativo, segundo a bula, continham os excipientes: amido, estearato de magnésio, manitol, amidoglicolato de sódio e laurilsulfato de sódio. O padrão secundário de SDZ foi adquirido da Sigma-Aldrich (São Paulo, Brasil). O ácido p-aminobenzóico foi adquirido da Infinity (Brasil).

O solvente acetonitrila (ACN) grau-CLAE foi adquirido da J. T. Baker (Phillipsburg, EUA). O ácido acético glacial e o hidróxido de sódio foram adquiridos da Sciavicco (Belo Horizonte, Brasil). Água ultra purificada foi obtida com o sistema de purificação de água Milli-Q Advantage® (Millipore, Bedford, USA).

4.1.2 Meios de cultura

Os meios de cultura Ágar Sabouraud-Dextrose, Ágar MacConkey, Ágar Tríplice Açúcar-Ferro (Kasvi, Itália); Caldo Caseína-Soja, Caldo MacConkey (Becton, Dickinson and Company, Sparks, EUA); Ágar Caseína-Soja e Ágar Lisina (Titan Biotech, Rajasthan, Índia); Ágar Citrato Simmons, Meio SIM, e Ágar Eosina Azul de Metileno (Himedia, Índia) foram preparados conforme instruções do fabricante e esterilizados em autoclave (Hi Speed NX, Baumer, São Paulo, Brasil).

4.1.3 Cepas

Para os testes microbiológicos foram utilizados os microrganismos descritos na Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010a): *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPRIMIDOS

Os comprimidos de SDZ foram a fonte de insumo ativo para o preparo das formulações líquidas. Para garantir a qualidade dos comprimidos, foi realizada a determinação do peso e o teor dos comprimidos.

Vinte comprimidos foram individualmente pesados em balança analítica digital (XS205DU, Mettler Toledo, Barueri, Brasil). Foram calculados o peso médio e o desvio padrão (DP), conforme recomenda a Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010a).

A determinação do teor de SDZ nos comprimidos foi realizada empregando cromatógrafo líquido de alta eficiência (Chromaster, Hitachi, Japão) constituído de sistema de bombas quaternária (modelo 5160), auto amostrador (modelo 5260), forno da coluna (modelo 5310) e sistema de detecção de arranjos de diodo (modelo 5430). Foi utilizado o método descrito na monografia da SDZ comprimidos da Farmacopeia Brasileira (2010b). Foi usada uma coluna LiChroCART 250-4, C18 (25 cm x 4 mm x 5 µm) mantida à temperatura ambiente. A fase móvel era composta de mistura de água, acetonitrila e ácido acético (87:12:1) com fluxo de 1,0 mL/min. Foi injetado um volume de 10 µL da solução de SDZ (1 mg/mL).

4.3 PREPARO DAS FORMULAÇÕES LÍQUIDAS

Foram selecionadas duas formulações de SDZ (100 mg/mL) com veículos simples presentes na literatura (SOUZA, 2003) usando comprimidos (500 mg) como fonte de insumo farmacêutico para investigar a estabilidade. A concentração adotada foi baseada na posologia da SDZ para crianças de 100 mg/kg/dia baseada em estudos

de padronização (ENGELS et al., 2016). A composição das formulações pode ser observada na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição das formulações

Formulação	Agente suspensor	Veículo
A	Metilcelulose 1% (p/v)	Xarope simples 85%
B	-	Sorbitol 70%

Fonte: O autor.

4.2.1 Suspensão A

O xarope simples preparado em laboratório conforme o Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira (solução de sacarose 85%) foi utilizado como veículo na suspensão A (BRASIL, 2012; GLASS; HAYWOOD, 2006). Foram pesados 40 comprimidos de SDZ (500 mg) e triturados usando gral e pistilo durante três minutos até a formação de um pó fino. Em seguida, foram adicionados 2 g de metilcelulose, promovendo a homogeneização dos pós. Em seguida, foi transferido gradualmente quantidade suficiente de xarope simples para o gral sob constante homogeneização para levigação dos pós. Posteriormente, a formulação foi transferida para um cálice a fim de completar com uma quantidade suficiente de veículo para 200 mL.

4.2.2 Suspensão B

A suspensão B foi preparada utilizando comprimidos de SDZ e solução de sorbitol 70% (GLASS; HAYWOOD, 2006). Foram triturados 40 comprimidos de SDZ (500 mg) usando gral e pistilo por três minutos. Em seguida, foi transferido gradualmente quantidade suficiente de solução de sorbitol 70% para o gral sob constante homogeneização para levigação dos pós. Posteriormente, a formulação foi transferida para um cálice a fim de completar até o volume final (200 mL).

4.4 MÉTODO DE DOSEAMENTO

A Farmacopeia Brasileira (2010) preconiza a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) como metodologia analítica para análise de doseamento de Sulfadiazina em comprimidos. Todavia, a Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (CLUE), outra técnica de cromatografia usada para separação de componentes em misturas, oferece como vantagens um menor consumo de solventes, separação mais rápida e propriedades de resolução melhores (GUMUSTAS et al., 2013; KUMAR et al., 2012). Por estas razões, os autores decidiram desenvolver um método utilizando CLUE partindo das condições originais do método farmacopeico (BRASIL, 2010b).

Foi utilizado um cromatógrafo (UFLC XR, Shimadzu) equipado com degaseificador DGU-20A₃, sistema de bombas binário LC-20AD XR, auto amostrador SIL-20AC XR, forno da coluna CTO-20AC, sistema de detecção DAD SPD-M20A e módulo de comunicação com o computador CBM-20A; e uma coluna Zorbax Eclipse Plus C18 (2,1 mm x 50 mm x 1,8 µm) (Agilent, EUA). As áreas dos picos foram integradas e os parâmetros cromatográficos calculados através do software LC solutions (Shimadzu).

A fase móvel isocrática foi composta de ácido acético glacial 1% (v/v) (A) e ACN (B) (87:13, v/v). Os componentes da fase móvel foram filtrados sob vácuo através de filtro microporoso de 0,22 µm. O fluxo da fase móvel foi de 0,2 mL/min e o volume injetado de amostra foi 1 µL. A temperatura de análise foi de 25 °C, com detecção em 266 nm.

4.4.1 Preparo da solução amostra

Para o preparo da solução de amostra teste foi pesado quantidade equivalente a 2 mL de SDZ da formulação (100 mg/mL), baseando-se na densidade da amostra (calculada conforme item 4.7.1.5), para balão volumétrico de 100 mL e dissolvido com 75 mL de hidróxido de sódio 0,025 M, onde permaneceu em ultrassom por 10 minutos. Finalizado o tempo, o balão foi completado com o mesmo solvente e homogeneizado. Em seguida, foi transferido 0,5 mL da solução recém preparada para

outro balão volumétrico de 50 mL. Hidróxido de sódio 0,025 M foi adicionado até completar o volume (concentração final de 0,02 mg/mL).

4.4.2 Preparo da solução padrão de SDZ

A solução padrão de SDZ foi preparada em hidróxido de sódio 0,025 M pela dissolução de 10 mg do padrão secundário de SDZ em balão volumétrico de 10 mL. Em seguida, 1 mL foi transferido para um balão volumétrico de 50 mL e o volume completado com hidróxido de sódio 0,025 M (concentração final de 0,02 mg/mL).

4.5 VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE DOSEAMENTO

Para demonstrar que o método é apropriado e confiável para a determinação quantitativa de SDZ nas transformações farmacêuticas é necessário realizar a validação do método. O método foi validado baseado nas exigências da RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. Foram avaliados os parâmetros: seletividade, linearidade, intervalo, precisão (repetibilidade e precisão intermediária), exatidão e robustez (BRASIL, 2017). Limite de detecção e de quantificação também foram avaliados.

4.5.1 Seletividade

A seletividade é a capacidade que o método possui de identificar ou quantificar o analito de interesse na presença de outros componentes que podem estar presentes na amostra, como impurezas, produtos de degradação, diluentes e componentes da matriz (BRASIL, 2017).

Como o sistema cromatográfico também pode produzir respostas para substâncias que não são de interesse, a seletividade do método precisa ser avaliada. Inclusive deve ser comprovada a pureza cromatográfica do sinal do analito através do auxílio de detectores de arranjo de fotodiodos para garantir que o pico cromatográfico é atribuído a um só componente (BRASIL, 2017).

Assim, a seletividade do método foi avaliada através da comparação dos cromatogramas das soluções obtidas do estudo de degradação forçada, da solução padrão, das soluções das amostras, das soluções dos veículos e do diluente, a fim de verificar qualquer interferência entre eles. Além da avaliação da pureza do pico de SDZ apresentado nas corridas analíticas.

4.5.1.1 Estudo de degradação forçada

Para demonstrar ausência de interferência de produtos de degradação é necessário expor a amostra a condições de degradação em ampla faixa de pH, de oxidação, de calor e de luz (BRASIL, 2017). Portanto, o estudo de degradação forçada auxilia na avaliação da seletividade do método frente aos possíveis produtos de degradação e pode ser empregado na avaliação de um método como indicativo de estabilidade.

Inicialmente foi preparada uma solução estoque das suspensões de SDZ. Foi pesado massa equivalente a 200 mg de SDZ da suspensão (A ou B) em um balão volumétrico de 100 mL e adicionado hidróxido de sódio 0,025 M. Foi levado para o banho ultrassônico por 10 minutos para completa dissolução. Posteriormente foram transferidos 0,5 mL dessa solução para cada condição de estresse avaliada dissolvida também em hidróxido de sódio 0,025 M. As condições de estresse (ácida, básica, fotolítica, térmica e oxidativa) foram estabelecidas a partir de outros estudos (GHANEM, M. M.; ABU-LAFI, 2013).

Na degradação ácida, foram adicionados 3 mL de ácido clorídrico 1 N, para alcançar um pH de aproximadamente 2. Após 120 minutos, a amostra foi neutralizada com 1 mL de hidróxido de sódio 1 N. Não foi adicionado nenhuma solução básica forte, pois o diluente já garante ao meio pH de aproximadamente 12, logo a amostra foi avaliada em 48 horas. Na degradação oxidante, 1 mL de solução de peróxido de hidrogênio 10% foi adicionado e o balão foi preenchido até a metade do volume com hidróxido de sódio 0,025 M, onde permaneceu sob agitação em temperatura ambiente por 24 horas. Na degradação pelo calor, a solução foi armazenada em estufa a 70 °C durante 72 horas, enquanto na degradação fotolítica, a solução foi exposta a luz UV (365 nm) por 48 horas. Após atingir o tempo de exposição em todos os casos, os

balões foram preenchidos com hidróxido de sódio 0.025 M e homogeneizados. Em seguida, as soluções foram filtradas em filtro de seringa de PTFE 0,45µm e injetadas em cromatógrafo.

4.5.2 Linearidade e Faixa de Trabalho

Trata-se da capacidade de obter respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração do analito, dentro de uma faixa estabelecida (BRASIL, 2017). Foi adotada a faixa de 70% a 130% da concentração teórica do teste. Para este parâmetro, três curvas analíticas foram preparadas, cada uma a partir de uma mesma solução mãe, apresentando sete níveis de concentrações diferentes dentro do intervalo do estudo: 0,014 mg/ml, 0,016 mg/mL, 0,018 mg/mL, 0,020 mg/mL, 0,022 mg/mL, 0,024 mg/mL e 0,026 mg/mL.

Os dados foram tratados por regressão linear pelo método dos mínimos quadrados dos pontos médios das três curvas de calibração para confirmação da linearidade. O coeficiente de correlação (r) deve ser igual ou superior a 0,99 (BRASIL, 2017). A homocedasticidade ou variância constante dos resíduos foi analisada através de gráfico de resíduos, a fim de garantir que os erros obtidos nas análises são aleatórios e não provenientes de tendências da metodologia.

4.5.3 Limite de detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

Limite de detecção é a menor quantidade do analito presente em uma amostra capaz de ser detectada, mas não necessariamente quantificada, sob condições experimentais estabelecidas, enquanto o limite de quantificação é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis, sob condições experimentais estabelecidas (BRASIL, 2017). O LD e o LQ teórico foram estimados através das equações, respectivamente,

$$LD = \frac{DPa \times 3,3}{IC}$$

$$LQ = \frac{DPa \times 10}{IC}$$

em que DPa é o desvio padrão do intercepto com o eixo de Y (coeficiente linear) de três curvas de calibração dos ensaios de linearidade, e IC é a inclinação da curva de calibração (coeficiente angular) (BRASIL, 2017). Foram confirmados pela preparação das soluções com as concentrações estimadas e a avaliação visual dos cromatogramas obtidos.

4.5.4 Precisão

Precisão é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos por meio de ensaios com as amostras preparadas semelhante ao método analítico a ser validado de maneira independente umas das outras. Pode ser expressa em repetibilidade (precisão intra-corrída), precisão intermediária (precisão inter-corrída) ou reprodutibilidade (BRASIL, 2017).

A precisão deve ser demonstrada pela dispersão dos resultados, calculando-se o desvio padrão relativo (DPR) segundo a fórmula,

$$DPR = \frac{DP}{CMD} \times 100$$

em que, DP é o desvio padrão e CMD, a concentração média determinada. O critério de precisão adotado foi de DPR inferior a 5%.

4.5.4.1 Repetibilidade

A repetibilidade avalia as amostras sob as mesmas condições de operação, mesmo analista e mesma instrumentação em uma única corrida analítica (BRASIL, 2017). Foram utilizadas 6 réplicas na concentração de 0,02 mg/mL individualmente preparadas para avaliação da repetibilidade.

4.5.4.2 Precisão intermediária

Trata-se da concordância entre os resultados do mesmo laboratório, porém obtidos em pelo menos dois dias diferentes, com analistas distintos. Este parâmetro contempla o mesmo número de determinações descritas na avaliação da repetibilidade em cada dia, totalizando 12 determinações.

4.5.5 Exatidão

Segundo a ANVISA (BRASIL, 2017), exatidão é a proximidade dos resultados individuais obtidos pelo método em estudo em relação a um valor aceito como verdadeiro. Deve ser obtida através do grau de concordância entre os resultados individuais do método em estudo em relação a um valor aceito como verdadeiro.

A exatidão foi determinada usando concentrações baixa, média e alta (70, 100 e 130%), contemplando o intervalo linear do procedimento, com três réplicas em cada nível. As amostras foram preparadas de maneira independente, utilizando apenas da mesma solução mãe da SQR e os veículos (A e B). A exatidão foi expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente, conforme fórmula abaixo. O critério de exatidão do método foi de recuperações de SDZ de $\pm 2\%$.

$$Exatidão = \frac{\text{concentração média experimental}}{\text{concentração teórica}} \times 100$$

4.5.6 Robustez

É a capacidade da metodologia analítica em resistir a pequenas variações das condições analíticas. Caso seja verificadas variações nas condições analíticas, estas devem ser controladas por medidas preventivas descritas no método (BRASIL, 2017).

Foram analisadas amostras em triplicata para cada item alterado. As modificações, conforme Tabela 2, foram: variação na composição da fase móvel, fluxo da fase móvel e temperatura do forno.

Tabela 2 - Alterações nos parâmetros analíticos para avaliação da robustez do método analítico para quantificação de SDZ em CLUE-DAD

Variável	Inferior	Condição original	Superior
Proporção de fase móvel (B)	88:12	87:13	86:14
Fluxo da fase móvel	0,18 mL/min	0,20 mL/min	0,22 mL/min
Temperatura do forno	24 °C	25 °C	26 °C

Fonte: O autor.

Para avaliar a influência desses fatores sobre os métodos foi determinado o DPR entre os valores de teor obtidos com a condição original e as variações aplicadas, sendo aceitável um DPR de até 5%.

4.6 ADEQUAÇÃO DOS ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS

Os métodos microbiológicos farmacopeicos precisam ser verificados frente a cada produto, uma vez que as formulações podem apresentar propriedades antimicrobianas específicas ligadas à presença de conservantes, do próprio princípio ativo, ou mesmo de outros excipientes (RAMOS, 2010).

Para demonstrar a adequação dos métodos farmacopeicos, é necessário avaliar previamente a capacidade da amostra de inibir o crescimento microbiano. A adequação do método requer o uso de microrganismos teste para a recuperação microbiana. Caso ocorra inibição do crescimento microbiano, a Farmacopeia Brasileira (2010a) apresenta os métodos de neutralização: diluição, uso de neutralizantes específicos, filtração por membrana e associação de ambos.

A inibição do crescimento microbiano decorrente do efeito bacteriostático da SDZ pode ocasionar resultado falso-negativo nas técnicas de contagem microbiana, dependentes da formação de colônias ou da turvação para a detecção de contaminantes. Portanto, se faz necessário neutralizar a atividade antimicrobiana. Segundo a Farmacopeia Brasileira, 5ª edição (BRASIL, 2010a), a ação inibitória das sulfonamidas no crescimento microbiano pode ser neutralizada por um excesso de PABA no diluente ou no meio de cultura como agente neutralizante químico, para ocorrer inibição competitiva entre a SDZ e o PABA. Como trata-se de neutralizante químico específico, foi necessário demonstrar a eficácia da ação neutralizante e a ausência de toxicidade frente aos microrganismos testados.

O procedimento deve ter as mesmas condições do teste de limite microbiano: preparo da amostra, tipo de meio de cultura e condições de incubação (BRASIL, 2010a). Para analisar formas farmacêuticas líquidas orais não estéreis de produtos sintéticos, a Farmacopeia Brasileira (2010a) estabelece a contagem total de bactérias aeróbias, a contagem de fungos e leveduras e a pesquisa de *E. coli*.

4.6.1 Preparo da suspensão microbiana e do inóculo padrão

Foram repicados os microrganismos teste dos tubos da cultura de estoque para tubos com 10 mL de Ágar Caseína-soja (bactérias), incubando a $32,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 18-24h, ou 10 mL de Ágar Sabouraud-dextrose (fungos e leveduras), incubando $22,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 2-3 dias para *C. albicans* e por 5-7 dias para *A. brasiliensis*. Foram utilizadas cepas microbianas de referência no máximo na 5ª geração, contadas a partir da cultura ATCC original (BRASIL, 2010a).

Cumprido período de incubação supracitado, a partir do crescimento microbiano obtido no meio de cultura em tubo, foi preparada suspensão microbiana de cada cepa, transferindo uma alçada de massa microbiana da superfície do meio de crescimento para tubo contendo 10 mL de solução tampão fosfato pH 7,2 estéril. Após homogeneização da suspensão inicial, foram feitas a partir dela diluições seriadas decimais de 10^{-1} a 10^{-5} , transferindo 1 mL da suspensão mais concentrada para 9 mL de solução tampão fosfato pH 7,2 estéril. Ao preparar a suspensão de esporos de *A. brasiliensis*, foi adicionado 0,05% de polissorbato 80 na solução tampão

fosfato pH 7,2. As suspensões foram usadas dentro de um período de 2 horas (BRASIL, 2010a).

Após homogeneização, foram transferidos 10 µL das diluições microbianas para placas estéreis em triplicata e adicionados 20 mL de ágar caseína-soja e ágar Sabouraud-dextrose, para contagem de bactérias aeróbias e de fungos, respectivamente. As placas de ágar caseína-soja foram incubadas por até 3 dias a $32,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ e as placas de ágar Sabouraud-dextrose por até 5 dias a $22,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Em seguida, foram feitas as contagens das unidades formadoras de colônias e calculadas as médias das triplicatas. O menor fator de diluição possível com quantidade menor ou igual 100 UFC/mL foi considerado o inóculo padrão para cada microrganismo teste (BRASIL, 2010a).

4.6.2 Método de neutralização da atividade antimicrobiana

Para demonstrar que a recuperação de um baixo inóculo não é inibida pela amostra teste nem pelo método de neutralização, foram preparados três grupos em triplicata: (T) produto neutralizado com inóculo, (N) neutralizante com inóculo e (C) inóculo na ausência de produto e neutralizante. A recuperação dos microrganismos teste deve ser igual ou superior a 50% (BRASIL, 2010a) através da comparação entre o grupo (T) e o grupo (N), o qual representa a eficácia da neutralização, bem como comparação também entre o grupo (C) e o grupo (N), a fim de demonstrar ausência de toxicidade do agente neutralizante. Além disso, é importante recuperar e identificar o patógeno no teste de pesquisa de patógeno.

O PABA foi adicionado aos meios de cultura (dos grupos T e N) durante o preparo, ágar caseína soja e ágar Sabouraud-dextrose na concentração de 1 g/L, e ao caldo de enriquecimento, 2 g/L, antes da esterilização.

4.6.3 Recuperação dos microrganismos mesófilos por semeadura em profundidade

As amostras (T) foram preparadas diluindo o equivalente a 10 mL das formulações em caldo de Caseína-soja, com a proporção de formulação e diluente de 1:10. Em triplicatas, foi adicionado 1 mL das amostras testes em placas de Petri estéreis e alíquota de 10 µL da suspensão do inóculo padrão do microrganismo selecionado para o teste. Posteriormente, foram adicionados 20 mL de ágar caseína-soja com PABA em cada placa, para contagem de aeróbios totais, ou 20 mL de ágar Sabouraud-dextrose com PABA para contagem de fungos. O conteúdo das placas foi homogeneizado manualmente com movimentos circulares e “em forma de oito”. As placas foram incubadas conforme Tabela 3.

Tabela 3 - Condições de crescimento dos microrganismos-testes para adequação do método de contagem microbiana na presença de SDZ

Microrganismo e ATCC	Meio de Cultura	Condições de Incubação
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Ágar Caseína-soja com ou sem PABA	32,5 °C ± 2,5 °C por até 3 dias
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231		
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404		
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Ágar Sabouraud-dextrose com ou sem PABA	22,5 °C ± 2,5 °C por até 5 dias
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404		

Fonte: O autor.

O grupo (N) foi preparado, em triplicata, adicionando 1 mL de caldo de Caseína-soja em cada placa em substituição à amostra, alíquota de 10 µL da suspensão do inóculo padrão do microrganismo selecionado para o teste, bem como da adição do meio de cultura com neutralizante, seguindo o mesmo procedimento adotado para as amostras testes.

Semelhantemente o grupo (C) foi preparado usando meio de cultura sem adição de neutralizante. Também foram realizados controles de esterilidade de cada meio de cultura e placa e dos tampões diluídos.

O crescimento das colônias foi avaliado por até 3 dias para bactérias e até 7 dias para fungos e leveduras. Foram utilizadas a média das placas em cada teste e controle, e calculado o número de unidades formadoras de colônia (UFC). Somente as placas que apresentarem número de colônias inferior a 250 para bactérias e *C. albicans* e 80 para *A. brasiliensis* por placa foram consideradas para registro dos resultados.

4.6.4 Pesquisa de *E. coli*

As amostras foram preparadas em diluição de 1:10 (T), utilizando o equivalente a 1 mL da formulação em 9 mL de caldo caseína-soja adicionado de PABA (2 g/L). Também foram preparados controles apenas com caldo de caseína-soja com e sem adição de neutralizante (grupos N e C, respectivamente). Foram adicionados 10 µL do inóculo padrão de *E. coli* (ATCC 8739) para os tubos de ensaios de análise. Após homogeneização com agitador de tubos, foram incubados a $32,5 \pm 2,5$ °C por 18 a 24 h. Após o período de incubação, foram homogeneizados e 1 mL de cada tubo foram transferidos para um frasco com 100 mL de Caldo MacConkey e incubados a 43 ± 1 °C por 48h. Após esse período de incubação, foram repicados por esgotamento, com o auxílio de uma alça bacteriológica, do caldo MacConkey para placa com ágar MacConkey e incubados a $32,5 \pm 2,5$ °C por 18h. Foram realizados controle de esterilidade de cada meio de cultura utilizado no teste por pelo menos 72h.

Ao final do período de incubação, prosseguiu-se com a caracterização morfotintorial e os testes bioquímicos para a confirmação de *E. coli*.

4.6.4.1 Testes confirmativos para *E. coli*

A colônia isolada do ágar MacConkey foi repicada para ágar Caseína-soja em tubo e incubada por 18 a 24 horas a $32,5 \pm 2,5$ °C para em seguida prosseguir com a coloração de Gram e as provas bioquímicas. Foram realizados testes em ágar Eosina

Azul de Metileno, ágar Tríplice Açúcar-Ferro, meio SIM, ágar Citrato Simmons e ágar Lisina Ferro. A presença da *E. coli* foi verificada através dos seguintes resultados:

- ✓ Coloração de Gram: bacilos Gram negativos (vermelho);
- ✓ Teste em Ágar Eosina Azul de Metileno: a colônia suspeita foi transferida do meio TSA para placa contendo EMB e incubada a $32,5 \pm 2,5$ °C por 24h. O teste é válido se houver crescimento de colônias pretas-esverdeadas com ou sem brilho metálico;
- ✓ Teste em Ágar Tríplice Açúcar-Ferro: a colônia suspeita do meio TSA foi inoculada em um tubo contendo TSI na superfície do meio e incubada a $32,5 \pm 2,5$ °C por 24h. O teste é válido se a parte superior do tubo apresentar reação ácida (cor amarela) e na base reação ácida (cor amarela), com formação de gás (bolhas ou meio fragmentado) e negativo para H₂S (ausência de precipitado negro);
- ✓ Teste em meio SIM: a colônia do tubo de TSA foi inoculada em picada para meio SIM e incubada a $32,5 \pm 2,5$ °C por 24 horas. Colônias típicas de *E. coli* apresentam motilidade positiva (turbidez do meio que se difunde ao redor da linha de inoculação), indol positivo (coloração vermelha na superfície) revelada pela adição do reativo de Kovacs e H₂S negativo;
- ✓ Teste em Ágar Citrato Simmons: foi inoculada a colônia do tubo de TSA para superfície de Ágar Citrato de Simmons em tubo inclinado e incubada a $32,5 \pm 2,5$ °C por 4 dias. O teste é válido se não ocorrer crescimento e a cor do meio permanecer inalterada (verde).
- ✓ Teste em Ágar Lisina Ferro: a colônia do tubo de TSA foi inoculada no tubo com LIA e incubada a $32,5 \pm 2,5$ °C por 24 horas. O teste é válido se o fundo e a rampa desenvolverem cor púrpura devido a descarboxilação da lisina (alcalinização do meio).

4.7 ESTUDO DE ESTABILIDADE

As formulações foram armazenadas nas temperaturas de armazenamento: 5 ± 3 °C e $22,5 \pm 2,5$ °C. As embalagens utilizadas são impermeáveis, portanto a umidade não foi controlada. As formulações foram identificadas e armazenadas em frascos bem fechados e protegidos da luz, em triplicata. As avaliações foram

realizadas no tempo inicial (tempo zero) e nos intervalos de tempo de 7, 14 e 30 dias, após agitação, garantindo a redispersão completa do sistema. Os critérios de aceitação do estudo para a estabilidade das formulações estão descritos na Tabela 4.

Em condições de armazenamento iguais, os veículos A e B também foram analisados isoladamente quanto às características organolépticas, pH e viscosidade.

Tabela 4 - Critérios de aceitação para a estabilidade das formulações

Teste	Referência	Critério de aceitação
Teor	Método da Farmacopeia Brasileira (5ª ed.) modificado	$95\% \leq \text{conteúdo} \leq 105\%$
Contagem total de aeróbios	Farmacopeia Brasileira (5ª ed.)	$< 10^2$ UFC/mL (valor máximo aceitável = 200)
Contagem de leveduras	Farmacopeia Brasileira (5ª ed.)	$< 10^1$ UFC/mL (valor máximo aceitável = 20)
Pesquisa de patógeno	Farmacopeia Brasileira (5ª ed.)	Ausência de <i>E. coli</i>

Fonte: O autor.

4.7.1 Estabilidade física

4.7.1.1 Características organolépticas

Foram avaliadas as seguintes características: cor, odor, formação de grumos ou tendência aparente de formar precipitados espontaneamente.

4.7.1.2 pH

A medida de pH foi realizada em aparelho de pHmetro (HI 221, Hanna, Montreal, Canadá) previamente calibrado.

4.7.1.3 Caracterização morfológica das partículas

A amostra foi distribuída uniformemente sobre a lâmina a fim de evitar partículas aglomeradas. O tamanho das partículas foi analisado adotando o método de diâmetro de Ferret (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2007). As análises morfológicas das partículas suspensas de SDZ foram realizadas em um microscópio óptico (T800, Taimin) com câmera MDK 2000 acoplado a um computador. A câmera permite que imagens sejam geradas, referentes aos campos analisados pelo programa Scopephoto. As imagens foram analisadas utilizando o programa ImageJ.

4.7.1.4 Viscosidade

Viscosidade é a expressão da resistência de líquidos ao escoamento (BRASIL, 2010a). A viscosidade cinemática foi determinada com o aparelho de viscosímetro de efluxo – do tipo copo Ford (Gehaka, São Paulo, Brasil) usando 120 mL como volume de amostra. O orifício selecionado para análise foi o de número 04. A viscosidade foi expressa em centiStokes (cSt). Em seguida, foi realizada a conversão do resultado para centiPoise (cP) utilizando os resultados obtidos da densidade das amostras (item 4.7.1.5).

4.7.1.5 Determinação da densidade relativa

A densidade relativa é baseada na relação entre o peso de uma substância ao ar e o peso de igual volume de água, ambos a 20 °C, usando-se um picnômetro calibrado. O picnômetro vazio foi pesado e em seguida pesado novamente com água ultrapurificada a 20 °C. Após seco, a amostra foi adicionada no picnômetro com o cuidado de remover o excesso e levada à pesagem. A partir da diferença da massa do picnômetro cheio e vazio, foi obtido o peso da amostra. Em seguida, foi calculado a relação entre a massa da amostra e a massa da água, ambas a 20 °C, denominada densidade relativa. Esse parâmetro foi realizado apenas no tempo inicial para caracterização da amostra.

4.7.2 Estabilidade química

O doseamento da SDZ foi realizado através da CLUE, conforme método descrito no item 4.4, através das injeções de solução padrão e da solução amostra. A partir dos cromatogramas obtidos, as áreas dos picos foram determinadas e foi calculado o teor de SDZ nas formulações a partir das respostas obtidas com a solução padrão e a solução amostra.

A estabilidade da SDZ em todas as formulações foi determinada por cálculo da porcentagem a partir da concentração inicial, sendo permitido uma variação de até $\pm 5\%$ (BRASIL, 2010b).

4.7.3 Estabilidade microbiológica

As formulações orais líquidas atendem aos requisitos microbianos se a contagem total de aeróbios for inferior a 10^2 UFC/mL, se a contagem total de leveduras for inferior a 10^1 UFC/mL e se for confirmada a ausência de *Escherichia coli* em 1 mL de amostra, conforme a Farmacopeia Brasileira, 5ª edição, para produtos não estéreis (BRASIL, 2010a).

4.7.3.1 Contagem de microrganismos

A contagem total de microrganismos foi realizada a partir da diluição das amostras na proporção de 1:10 com caldo de caseína-soja. Foi utilizada a técnica de semeadura em profundidade, 1 mL da diluição da amostra foi transferido para a placa de Petri estéril. O meio de cultura estéril com PABA foi vertido sobre cada uma das placas contendo amostra, com subsequente homogeneização com movimentos circulares, as quais permaneceram sob a bancada de trabalho até solidificação a temperatura ambiente. Em seguida, foram incubadas por até 5 dias em placas de ágar Caseína-soja a $32,5 \pm 2,5$ °C para aeróbios totais e até 7 dias em placas de ágar Sabouraud-dextrose a $22,5 \pm 2,5$ °C para bolores e leveduras. As colônias foram contadas com auxílio de contador de colônias e foi calculado o número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por mL. O número de UFC/mL da formulação foi calculado através da média aritmética das placas de cada meio (BRASIL, 2010a).

4.7.3.2 Pesquisa de *E. coli*

A pesquisa de *E. coli* foi realizada inicialmente adicionando 1 mL da formulação em 9 mL do caldo de enriquecimento (Caldo caseína-soja) acrescido de PABA 2 g/L, sendo incubado em estufa a $32,5 \pm 2,5$ °C durante 18 a 24 horas. Após incubação, foi transferido 1 mL da amostra enriquecida para 100 mL de Caldo MacConkey, sendo incubado a 43 ± 1 °C durante 24 a 48 horas. Em seguida, foi realizada uma cultura em placa de Ágar MacConkey, sendo incubado novamente a $32,5 \pm 2,5$ °C por 18 a 72 horas. As suspensões cumpriram o teste quando não foi observado crescimento de colônias (BRASIL, 2010a). Caso houvesse crescimento, prosseguia com as provas bioquímicas para confirmação do microrganismo.

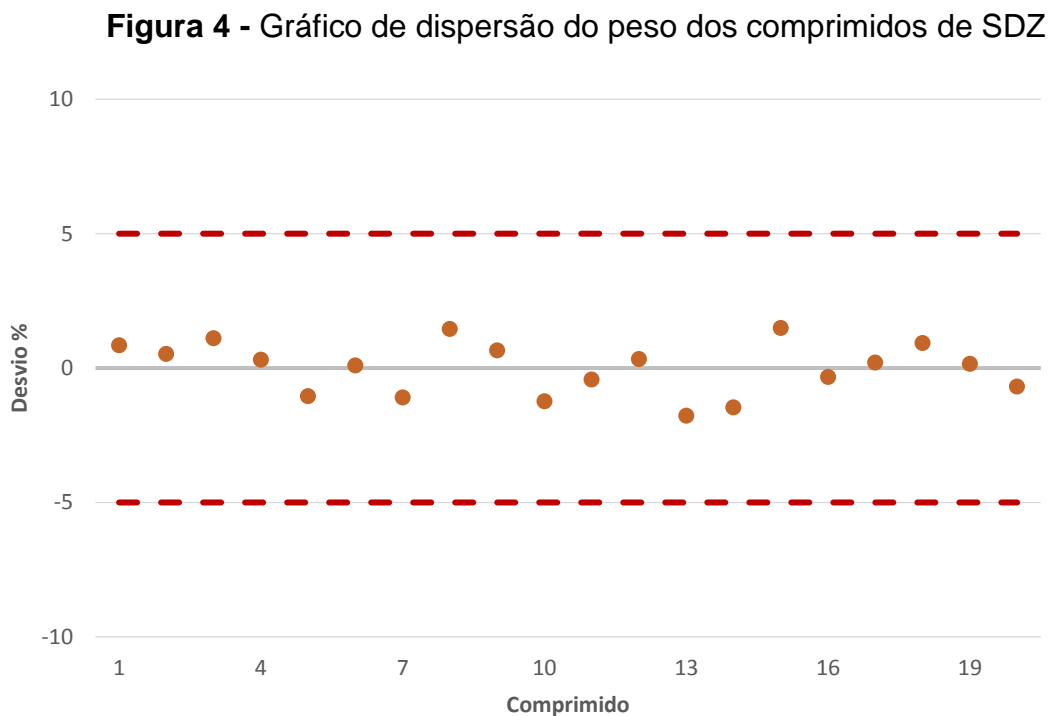
4.7.4 Análises estatísticas

Os resultados obtidos do estudo de estabilidade foram expressos como média das triplicatas \pm desvio padrão da média. Esses dados foram estatisticamente analisados pela análise de variância (ANOVA) e pelo teste-t Student utilizando o software Prism® (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). O nível de significância considerado foi $p < 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPRIMIDOS

Para realizar o teste de determinação do peso, foi calculado o peso médio dos comprimidos previamente. O peso médio encontrado foi de 587,81 mg. Segundo a Farmacopeia Brasileira (2010a), comprimidos não revestidos com peso médio superior a 250 mg devem atender ao limite de variação de $\pm 5\%$ do peso médio. Logo, os comprimidos atenderam ao critério de aceitação, uma vez que apresentaram desvio dentro do intervalo permitido de $-1,77\%$ a $1,49\%$ do peso médio, indicando, assim, uniformidade de peso (Figura 4).



Fonte: O autor.

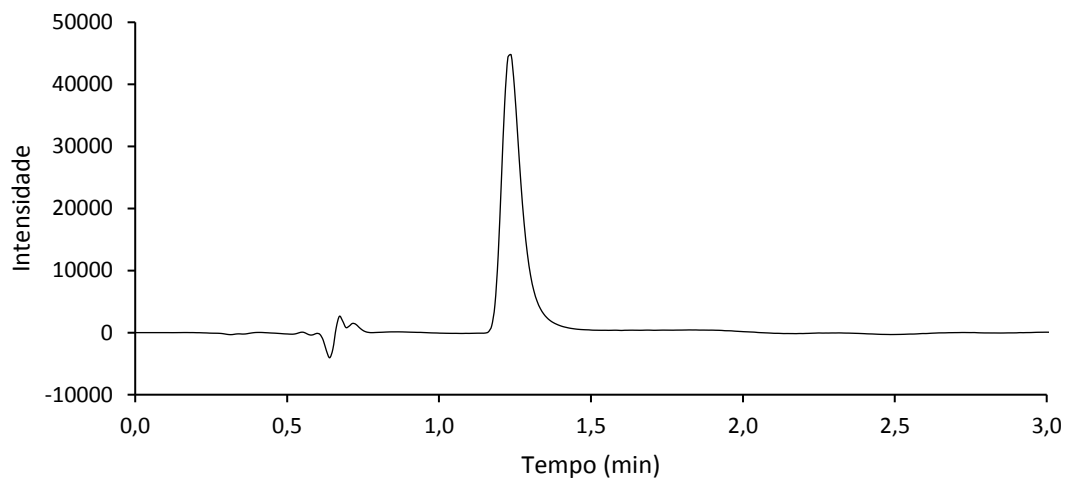
O teor de SDZ nos comprimidos foi $100,82\% \pm 1,01$ de conteúdo nominal, dentro da variação permitida de $\pm 5\%$ pela monografia de SDZ comprimidos (BRASIL, 2010b). Essas determinações foram realizadas para garantir que a fonte de insumo farmacêutico ativo atendia às especificações farmacopeicas.

5.2 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO

5.2.1 Seletividade

A partir da análise dos cromatogramas da solução diluente, das soluções dos veículos e da solução padrão, foi possível comprovar a não existência de picos além do pico padrão de SDZ. Logo, não há interferentes eluindo no mesmo tempo de retenção do analito. Além disso, a pureza do pico também foi verificada com o auxílio do DAD. Na Figura 5, observa-se o pico do padrão da SDZ na corrida analítica em um tempo de retenção de 1,25 minutos.

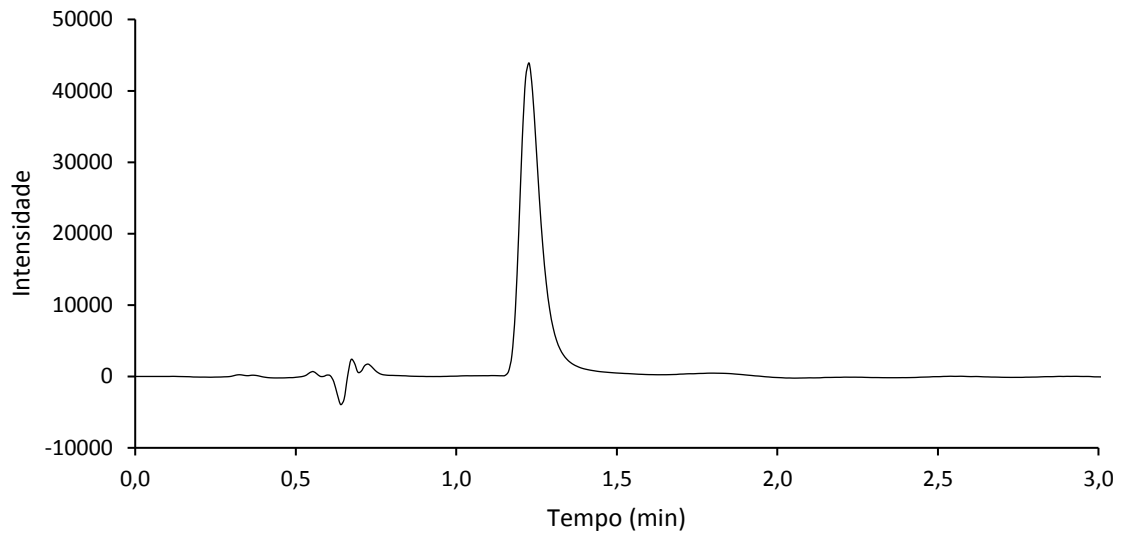
Figura 5 - Cromatograma do padrão de SDZ



Fonte: O autor

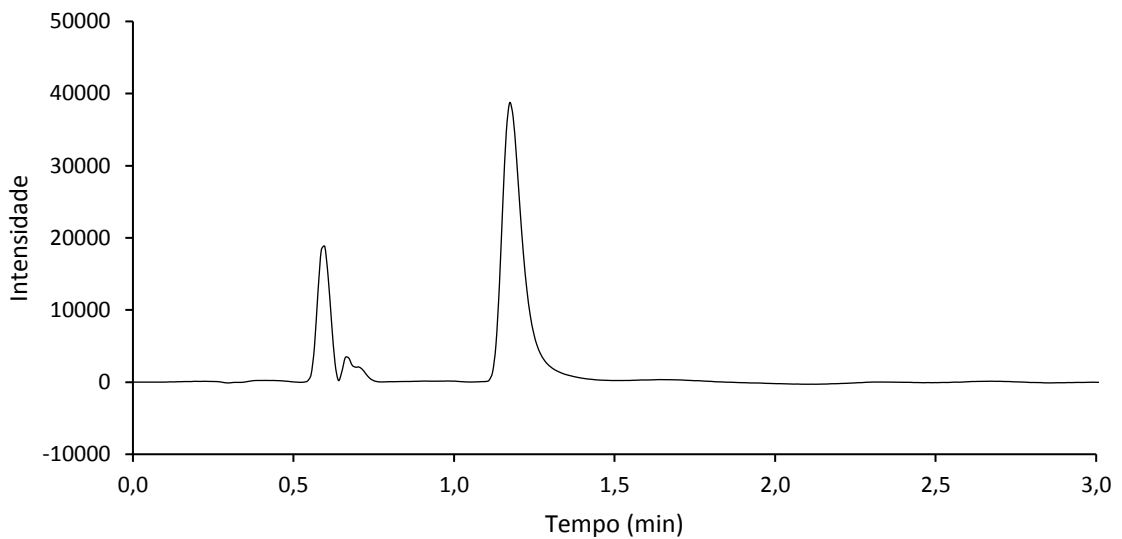
No estudo de degradação forçada em condições de estresse (ácida, básica, fotolítica, térmica e oxidativa), não foram observados novos picos relacionados a produtos de degradação mesmo após repetições do teste. Na Figura 6, observa-se o cromatograma referente à suspensão de SDZ A submetida à degradação forçada ácida, semelhante às demais condições analisadas, exceto à degradação forçada oxidativa com a presença do pico referente ao peróxido de hidrogênio (Figura 7).

Figura 6 - Cromatograma da suspensão de SDZ A submetida à degradação forçada ácida



Fonte: O autor.

Figura 7 - Cromatograma da suspensão de SDZ B submetida à degradação forçada oxidativa



Fonte: O autor.

No entanto, foi identificada redução da área em algumas amostras, indicando degradação da SDZ. A taxa percentual de redução de teor de cada formulação está apresentada na Tabela 5.

Tabela 5 – Taxa de redução de teor de SDZ nas suspensões em condições de estresse

Condição de estresse	Suspensão A (%)	Suspensão B (%)
Ácida (HCl 1 N; 2 h)	2,0	0
Básica (NaOH 0,025M;48h)	1,67	0
Fotolítica (365 nm; 48 h)	5,3	0
Térmica (70 °C; 72 h)	2,2	2,2
Oxidativa (H ₂ O ₂ 10%; 24 h)	8,0	5,3

Fonte: O autor.

De acordo com os dados da literatura, os principais produtos de hidrólise de sulfonamidas são o ácido sulfanílico, sulfanilamida e anilina (CIOROIU et al., 2013). Porém, semelhantemente, em outros estudos também não foram identificados produtos de degradação mesmo após aumento da condição de estresse, evidenciando a resistência da SDZ (BIAŁK-BIELIŃSKA et al., 2012).

As taxas de degradação de SDZ encontradas no presente estudo foram baixas (inferiores a 10%), mas estão de acordo com Ferreira et al. (2016) que encontraram taxas de aproximadamente 3% para diversas condições. Cioroiu et al. (2013) identificaram produtos de degradação da SDZ de prata em diferentes condições de estresse através de CLAE-DAD e espectrometria de massas em concentrações inferiores a 3%. Outros estudos também apontam a estabilidade da SDZ em ambientes ácidos, neutros e alcalinos (BIAŁK-BIELIŃSKA et al., 2012; CONDE-CID et al., 2018). Em contrapartida, um estudo com SDZ sódica encontrou taxa de degradação de aproximadamente 10% em condições ácidas semelhantes ao do presente estudo com apenas uma hora de exposição (GHANEM, M. M.; ABU-LAFI, 2013).

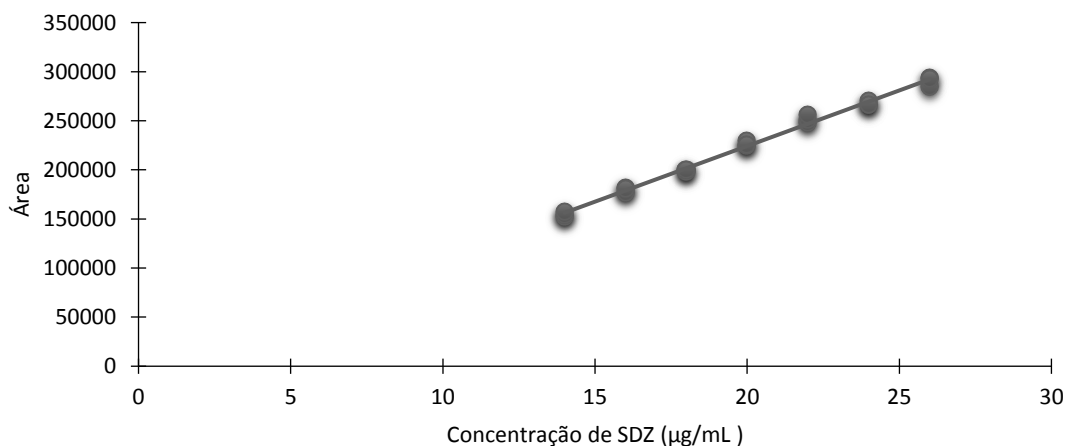
Os efeitos da temperatura (70 °C) foram analisados, porém pouco afetou o princípio ativo, uma vez que a redução da área do pico cromatográfico correspondeu apenas a 2,2% em ambas suspensões; esta observação está em conformidade com os dados disponíveis na literatura (FERREIRA et al., 2016).

A degradação oxidativa foi a mais expressiva comparada às demais condições estudadas, apresentando uma degradação de 8,0% na suspensão de SDZ A e de 5,3% na suspensão B. Em uma pesquisa com SDZ sódica, obteve-se uma degradação de 10,8% após exposição à solução de H₂O₂ 3% por 24 horas (GHANEM, M.; ABU-LAFI; MOHAMMAD, 2013). Com exposição à mesma solução de peróxido de hidrogênio, Friciu et al. (2016b) alcançaram uma degradação em suspensões de gabapentina de 14% com apenas 4 horas de exposição; enquanto Lewis et al. (2017) obtiveram uma degradação de 53% de pirimetamina após 24 horas.

5.2.2 Linearidade e Faixa de Trabalho

A linearidade do método foi determinada através da construção de três curvas analíticas, contemplando sete concentrações e uma faixa de 70% a 130% da concentração de trabalho. Os resultados do estudo de linearidade e a curva de calibração estão apresentados, respectivamente, na Figura 8 e na Tabela 6.

Figura 8 - Curva analítica para a quantificação de SDZ em CLUE-DAD



Fonte: O autor.

Tabela 6 – Avaliação da linearidade do método analítico para quantificação de SDZ em CLUE-DAD

Concentração (%)	Concentração (µg/mL)	Área
		152342
70	14	154232
		156981
		176843
80	16	181874
		180605
		200308
90	18	198457
		199843
		229345
100	20	224986
		225111
		248414
110	22	250616
		255946
		266217
120	24	270094
		265852
		284919
130	26	293389
		292304

Fonte: O autor.

Um coeficiente de correlação (r) de 0,9945 foi obtido, indicando, portanto, uma adequada correlação entre a concentração do analito e a área do pico de interesse. Também foi calculada a equação da reta $y=11329x-2351,2$. Para esta análise o método apresentou resposta linear na faixa de 0,014 a 0,026 mg/mL de SDZ.

Os dados foram considerados homocedásticos, pois a variância dos resultados de y foi constante para cada valor de x após a aplicação do teste de Cochran, uma vez que o $C_{\text{calculado}}$ foi menor que o $C_{\text{crítico}}$, aceitando-se, portanto, a hipótese nula (Tabela 7).

Tabela 7 - Avaliação da homocedasticidade dos resíduos da regressão da curva analítica obtida para a quantificação de SDZ em CLUE-DAD

Teste de Cochran (Homocedasticidade)	
Maior variância do somatório	21242725,00
Somatório das variâncias	61139011,33
Quantidade de réplicas	3
Número de pontos	7
C crítico	0,975
C calculado	0,347

Fonte: O autor.

Para avaliar a validade da regressão, foram comparados os valores de F calculado e F tabelado, uma vez que para o coeficiente angular da curva ser diferente de zero, os valores de F obtidos devem ser maiores que os de F calculado. O valor de F encontrado foi muito maior que o F tabelado (Tabela 8), assim, a inclinação da reta não é nula. Dessa forma, a regressão obtida pode ser considerada preditiva.

Tabela 8 – Avaliação da variância (ANOVA) dos resultados da regressão linear

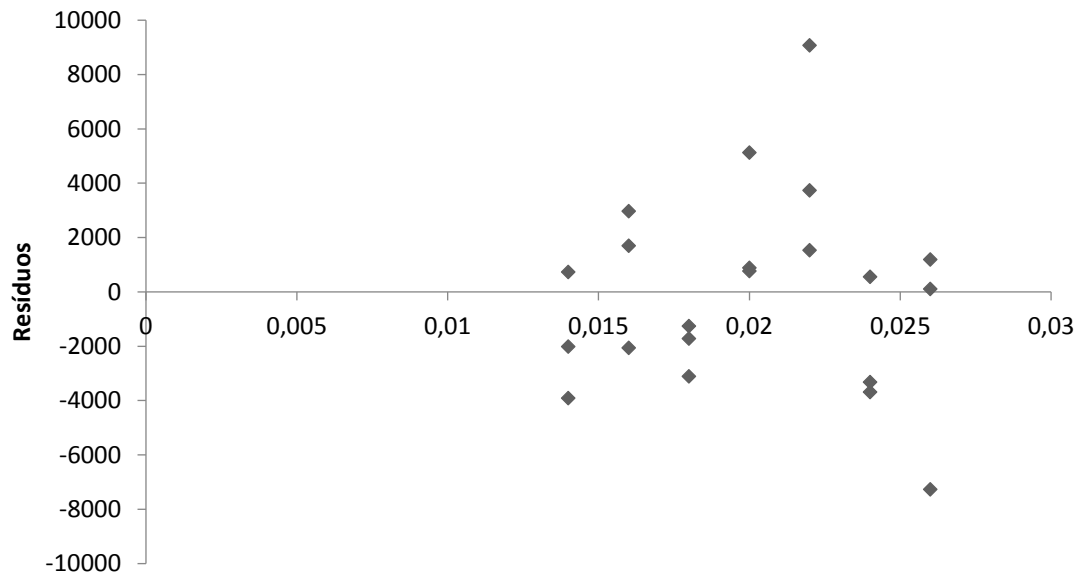
	GI	SQ	MQ	F	F tabelado
Regressão	1	43122025891	43122025891	3207,485161	$1,2 \cdot 10^{-22}$
Resíduo	19	255439526,8	13444185,62		
Total	20	43377465418			

Fonte: O autor.

Além disso, o gráfico de resíduos, obtido através de análise estatística, também apresentou que a distribuição é aleatória e sem tendências, conforme

observado na Figura 9. A fim de comprovar a ausência de outliers foi realizado o teste de Grubbs e o teste de normalidade, sendo constatada a ausência de valores aberrantes.

Figura 9 - Gráfico de resíduos da regressão da curva analítica



Fonte: O autor.

5.2.3 LD e LQ

O LD e o LQ foram calculados a partir da curva de calibração (conforme itens 5.4.5 e 5.4.6) e comprovados após injeção de soluções de SDZ no cromatógrafo. O LD encontrado foi de 1,188 $\mu\text{g/mL}$ e o LQ foi de 3,601 $\mu\text{g/mL}$. Valores de LD e LQ menores são encontrados na literatura (ESTEVEZ et al., 2016; FERREIRA et al., 2016), entretanto como o método tem a finalidade de determinação de teor de substância ativa e não de produtos de degradação, o método garante a determinação do teor com distância significativa dos limites de detecção e de quantificação encontrados. Além disso, foram estimados através de fórmulas, logo, na prática, podem ser encontrados limites inferiores aos estimados.

5.2.4 Precisão

A precisão foi analisada em duas etapas: precisão intra-corrída e inter-corrída. A precisão do método foi demonstrada através da repetibilidade (precisão intradia), analisando-se em curto intervalo de tempo amostras de mesma concentração, preparadas sob as mesmas condições pelo mesmo analista. Os valores obtidos para a determinação da repetibilidade do método estão dispostos na Tabela 9.

Tabela 9 – Avaliação da precisão (repetibilidade) do método analítico para doseamento de SDZ por CLUE-DAD

	Suspensão A		Suspensão B	
	Área	%	Área	%
1	214599	97,5	203207	93,0
2	213452	97,8	205501	95,1
3	215809	98,9	202389	93,9
4	213883	97,3	210282	94,5
5	207995	95,1	209256	95,6
6	212101	96,5	212719	97,3
Média	212973	97,2	207225	94,9
DPR	1,3	1,3	2,0	1,6

Fonte: O autor.

A repetibilidade representa a concordância entre os resultados de análises sucessivas de um mesmo método efetuadas sob as mesmas condições. Este parâmetro é essencial, pois afirma que o método é seguro para diversas medições intradia. A partir dos baixos valores de DPR obtidos, com variações inferiores a 5%, pode-se assegurar que não há variabilidade importante nos resultados no decorrer da rotina de um dia de análise, conforme as recomendações da *International Conference on Harmonisation* (ICH, 1996). DPR inferiores a 1% são encontrados na literatura, entretanto, em alguns deles, a repetibilidade foi determinada utilizando a mesma solução (LEWIS et al., 2017; SANTOVEÑA, Ana et al., 2016).

A precisão intermediária é um parâmetro que indica o efeito das variações em um laboratório (dias, analistas, equipamentos ou a combinação destes). Os valores da precisão intermediária são demonstrados na Tabela 10.

Tabela 10 - Avaliação da precisão intermediária do método analítico para doseamento de SDZ por CLUE-DAD

	Dia 01		Dia 02		DPR ²
	% Média	DPR ¹	% Média	DPR ¹	
Suspensão A	91,49	0,99	97,17	1,30	3,33
Suspensão B	87,78	1,86	94,90	1,57	4,39

Fonte: O autor.

¹ (n=6)

² (n=12)

É importante destacar que as formulações se tratam de suspensões viscosas, logo, as tomadas de alíquotas poderiam ser prejudicadas, comprometendo a precisão do método. Todavia, baseando-se na média dos resultados obtidos em diferentes dias de análise e por diferentes analistas, o método pode ser considerado reprodutível, desde que seja realizado nas mesmas condições analíticas, já que os valores de DPR para ambas formulações se apresentaram abaixo de 5% (ICH, 1996). Musko e Sznitowska (2013) também encontraram DPR elevado de 4,52% para a precisão entre dias diferentes.

5.2.5 Exatidão

Foram preparadas soluções com os excipientes (A ou B) contaminadas com uma mesma solução mãe de SQR de SDZ nas concentrações de 70%, 100% e 130% da concentração de trabalho, contemplando a faixa de trabalho estabelecida, em triplicata em cada concentração. Nesse parâmetro, foi avaliado a porcentagem de recuperação das amostras para cada nível, conforme demonstrado na Tabela 11.

Tabela 11 - Avaliação da exatidão do método analítico para doseamento de SDZ por CLUE-DAD

Formulação	Nível	Concentração	Concentração	DPR	Recuperação (%)
		teórica (µg/mL)	experimental (µg/mL)		
A	70%	14,0	13,9	1,71	99,63
A	100%	19,9	20,0	1,12	100,13
A	130%	25,9	25,9	1,91	100,00
B	70%	14,0	14,1	1,41	100,88
B	100%	19,9	20,0	1,56	100,46
B	130%	25,9	25,8	0,89	99,71

Fonte: O autor.

A Farmacopeia Brasileira 5ª edição e a ANVISA (BRASIL, 2017) não preconizam o critério de aceitação para o teste da exatidão, dessa forma, adotou-se a Farmacopeia Americana que considera um coeficiente de variação da porcentagem de recuperação de até 2% da concentração teórica (USP, 2010).

O percentual de recuperação encontrado para a matriz A variou de 99,63 a 100,13%, e para a matriz B de 99,71% a 100,88%, atendendo a variação aceitável de $\pm 2\%$, inclusive adotada por outros estudos (FERREIRA et al., 2016; ZAID et al., 2017), comprovando, assim, a exatidão do método proposto.

5.2.6 Robustez

Após as injeções em triplicata das condições determinadas na metodologia para a avaliação da robustez e integração dos picos dos cromatogramas resultantes das variações estabelecidas, pode-se inferir, por meio dos dados tabelados (Tabela 12), que os parâmetros de temperatura de forno, fluxo e proporção de FM obtiveram valores de variação adequados para serem considerados robustos.

Tabela 12 - Avaliação da robustez do método analítico para doseamento de SDZ por CLUE-DAD

Amostra	Condição original			Média	DPR (%)
	-	+	+		
Temperatura do forno	24 °C	25 °C	26 °C		
SDZ (A)	101,80	100,88	96,75	99,81	2,70
SDZ (B)	89,75	90,69	87,77	89,40	1,67
Proporção de FM	88:12	87:13	86:14		
SDZ (A)	106,06	102,63	102,23	103,64	2,03
SDZ (B)	93,14	89,78	88,92	90,62	2,46
Fluxo da FM (mL/min)	0,18	0,20	0,22		
SDZ (A)	98,09	100,88	100,26	99,74	1,47
SDZ (B)	89,22	90,29	92,81	90,78	2,03

Fonte: O autor.

5.2.7 Resumo da validação

Na tabela 13, encontram-se dispostos todos os valores encontrados no estudo de validação do método por CLUE para a determinação do teor de SDZ. Verificou-se que o método apresenta especificidade, linearidade, precisão, exatidão e robustez adequados à análise, além de satisfatórios limites de detecção e quantificação (BRASIL, 2017), sendo, portanto, um novo método analítico para quantificação de SDZ mais rápido e econômico. Considerando que na CLAE o tempo da corrida analítica era de dez minutos e no CLUE foi de apenas três minutos, a economia de fase móvel foi de aproximadamente 70%.

Tabela 13 - Resumo do estudo da validação do método analítico para quantificação de SDZ em CLUE-DAD

		Suspensão A	Suspensão B
Equação da reta		$y = 11329x - 2351,2$	
R²		0,9941	
LD (µg/mL)		1,188	
LQ (µg/mL)		3,601	
	14,0 µg/mL	99,63 ± 1,71	100,88 ± 1,41
Recuperação (%)	19,9 µg/mL	100,13 ± 1,12	100,46 ± 1,56
	25,9 µg/mL	100,00 ± 1,91	99,71 ± 0,89
Intradia (DPR %)		1,30	1,57
Interdia (DPR %)		3,35	4,36

Fonte: O autor.

5.3 ADEQUAÇÃO DOS ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS

Quando uma forma farmacêutica contém substâncias antimicrobianas, é recomendado o estudo de estabilidade microbiológica (HAN et al., 2006). Para isso, é crucial eliminar qualquer atividade antimicrobiana do produto para garantir eficácia nos ensaios de recuperação microbiana e assegurar adequação dos ensaios microbiológicos farmacopeicos.

Como em ensaios de recuperação microbiana é necessário utilizar suspensões celulares contendo entre 10-100 UFC/mL (BRASIL, 2010a), foram padronizadas diluições de uso para cada microrganismo teste, conforme Tabela 14.

Tabela 14 – Tamanho do inóculo das diluições padronizadas dos microrganismos-testes utilizadas no estudo de adequação do método de contagem microbiana na presença de SDZ

Microrganismo teste	Diluição	Tamanho do inóculo
<i>S. aureus</i>	10 ⁻⁵	14,7 ^a
<i>P. aeruginosa</i>	10 ⁻⁴	56,3 ^a
<i>E. coli</i>	10 ⁻⁴	91 ^a
<i>C. albicans</i>	10 ⁻²	92,3 ^a / 58 ^b
<i>A. brasiliensis</i>	10 ⁻¹	17,5 ^a / 5 ^b

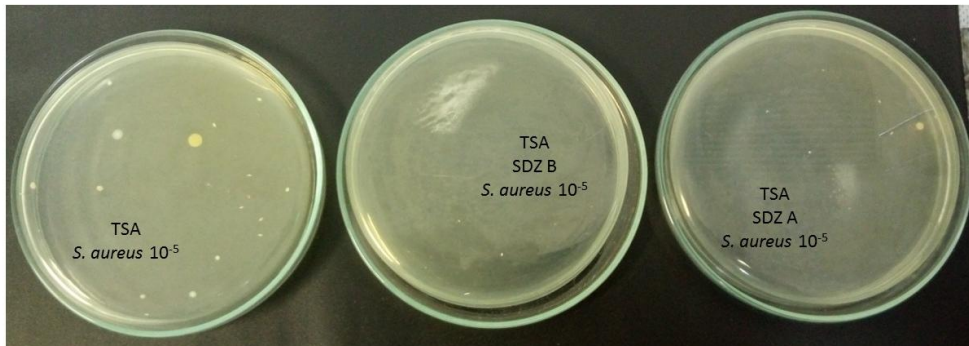
Fonte: O autor.

^a Contagem em Ágar caseína-soja. ^b Contagem em Ágar Sabouraud-Dextrose.

Primeiramente, procedeu-se com ensaios microbiológicos de recuperação microbiana (BRASIL, 2010a) de *S. aureus* na presença das suspensões de SDZ em ágar caseína-soja. No entanto, como o princípio ativo é um fármaco bacteriostático, ele inibiu o crescimento microbiano. O resultado da inibição do crescimento pelas suspensões de SDZ pode ser observado na Figura 10.

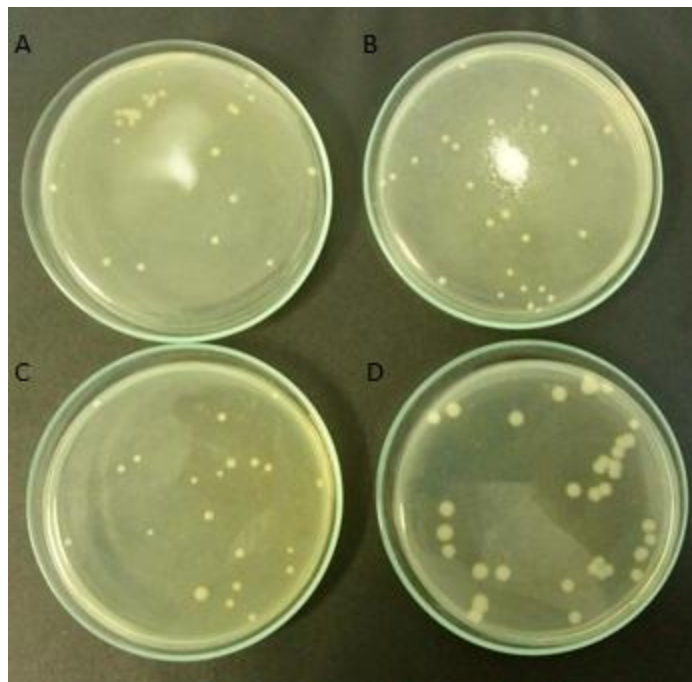
Dessa forma, foi necessário neutralizar a atividade antimicrobiana da SDZ. O PABA foi utilizado como neutralizante químico, conforme recomendado na Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010a). Após testes, observou-se que a neutralização ocorreu em proporções de 2:1 da amostra e neutralizante, respectivamente. Logo, foi adicionado PABA na concentração de 1 g/L no ágar caseína-soja e no ágar Sabouraud-dextrose e na concentração de 2 g/L no caldo de caseína-soja (utilizado como caldo de enriquecimento na pesquisa de *E. coli*). Na Figura 11 pode-se observar a recuperação microbiana de *P. aeruginosa* (eficácia da neutralização) e a ausência de toxicidade do PABA frente ao microrganismo.

Figura 10 - Inibição do crescimento de *S. aureus* na presença das suspensões de SDZ A e B em ágar caseína-soja



Fonte: O autor.

Figura 11 - Recuperação de *P. aeruginosa* na presença das suspensões de SDZ e PABA em ágar caseína-soja



Fonte: O autor.

(A): Grupo (T): meio de cultura com PABA e suspensão de SDZ A; (B): Grupo (T): meio de cultura com PABA e suspensão de SDZ B; (C): Grupo (N): meio de cultura com PABA e sem amostra; (D): meio de cultura sem PABA e sem amostra.

Em outros estudos com conservantes nas formulações, consequentemente inibidores de crescimento microbiano, associações de polissorbato 80 e lecitina de

soja em diferentes concentrações, associadas também a diluições do produto, são utilizadas como neutralizantes (ASSIS et al., 2011; RAMOS, 2010).

Os resultados obtidos da recuperação microbiana nas formulações de SDZ A e SDZ B nos diferentes grupos estão apresentados na Tabela 15.

Tabela 15 – Recuperação dos microrganismos testes em ágar caseína-soja e Sabouraud-dextrose na presença das suspensões de SDZ A e B

Microrganismo teste	Grupo	% R	Grupo	% R	Grupo (N)	% R*	Grupo (C)
	(T) SDZ A		(T) SDZ B				
Ágar Caseína Soja							
<i>S. aureus</i>	12	78,3	12,7	82,6	15,3	104,5	14,7
<i>P. aeruginosa</i>	51,7	111,5	45	97,1	46,3	82,2	56,3
<i>C. albicans</i>	83	94,9	85	97,1	87,5	94,8	92,3
<i>A. brasiliensis</i>	9	90	12	120	10	57,1	17,5
Ágar Sabouraud-dextrose							
<i>C. albicans</i>	65	98	59,7	89,9	66,3	114,4	50
<i>A. brasiliensis</i>	3,7	73,3	6,7	133,3	5	100	5

Fonte: O autor.

Grupo (T): meio de cultura com PABA e amostra; Grupo (N): meio de cultura com PABA e sem amostra; Grupo (C): meio de cultura sem PABA e sem amostra; %R: % de recuperação da comparação dos grupos (T) e (N); %R*: % de recuperação da comparação dos grupos (N) e (C).

A eficácia da neutralização foi observada através das porcentagens de recuperação nos grupos testes, os quais variaram de 73,3% a 111,5% para suspensão de SDZ A e de 82,6% a 133,3% para suspensão de SDZ B. A Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010a) afirma que a recuperação microbiana deve ser igual ou superior a 50%. Logo, os resultados estão em conformidade com as recomendações farmacopeicas. Assis et al. (2011) também observaram uma alta taxa de recuperação microbiana de 90,95% a 99,72% em uma suspensão oral de mebendazol usando polissorbato 80 e lecitina de soja como neutralizantes da atividade antimicrobiana dos conservantes da formulação.

Da mesma forma, também é possível comprovar a ausência de toxicidade do PABA para os microrganismos teste observando-se os índices de recuperação nos grupos (N) que variaram de 57,1% a 114,4%, onde verifica-se a recuperação microbiana na presença do neutralizante sem a interferência da amostra antimicrobiana. Portanto, os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com a Farmacopeia Brasileira que determina valores de recuperação dos microrganismos teste igual ou superior a 50% (BRASIL, 2010a).

É importante destacar que a taxa de recuperação de *S. aureus* foi a menor comparada aos demais microrganismos teste com 78,3% e 82,6% para as suspensões de SDZ A e B, respectivamente; embora as condições do teste são consideradas ideais para o seu crescimento. Entretanto, esse resultado também foi observado por Rebello (2015).

Os ensaios de pesquisa e identificação de *E. coli* foram realizados utilizando PABA a 2 g/L no Caldo de Caseína-soja, uma vez que os demais passos dependem de alíquota inicial desse meio de cultura, e responderam satisfatoriamente quanto à identificação do patógeno, demonstrando eficácia e ausência de toxicidade do neutralizante frente ao microrganismo.

5.4 ESTUDO DE ESTABILIDADE

Durante o estudo de estabilidade das formulações de SDZ A e B sob diferentes temperaturas de armazenamento, além do doseamento de SDZ, foram realizadas avaliações das características organolépticas, determinações de pH, tamanho de partícula e viscosidade e também o controle de qualidade microbiológico. As amostras foram analisadas até 30 dias de armazenamento.

5.4.1 Estabilidade física

Embora o veículo de incorporação seja um xarope, as partículas permanecem dispersas no xarope, apresentando-se como suspensão.

5.4.1.1 Características organolépticas

Para tratamentos orais, as características organolépticas são cruciais para a adesão das crianças aos regimes terapêuticos. A cor é um dos atributos importantes pois são imediatamente notados pelo consumidor, uma vez que alterações podem indicar reações de degradação do fármaco e contaminação microbiana (PROVENZA et al., 2014). Suspensões preparadas a partir de comprimidos geralmente assumem a cor característica da forma farmacêutica original caso corantes não sejam usados, logo, a cor branca é a mais comum entre as formulações (ESTEVEZ et al., 2016).

No tempo zero, as formulações de SDZ preparadas apresentaram características organolépticas semelhantes: cor branco pérola, inodoras, ausência de partículas precipitadas. Entretanto, a partir do tempo de 14 dias de estudo, foi observado que as suspensões de SDZ A e B, independente da temperatura de armazenamento, apresentaram formação de precipitado de difícil redispersão, exigindo maior tempo agitação, e crescente cristalização observada nas paredes do recipiente de armazenamento. Devido à cor branca uniforme na formulação, mesmo em condições de repouso, não foi viável realizar ensaios de volume de sedimentação.

Na observação isolada dos veículos A e B, foi identificado um escurecimento do veículo A no tempo de 30 dias, em ambas as temperaturas de armazenamento. Além disso, também se observou a presença de possível contaminação fúngica. Enquanto no veículo B não foi observado mudanças ao longo dos 30 dias de estudo.

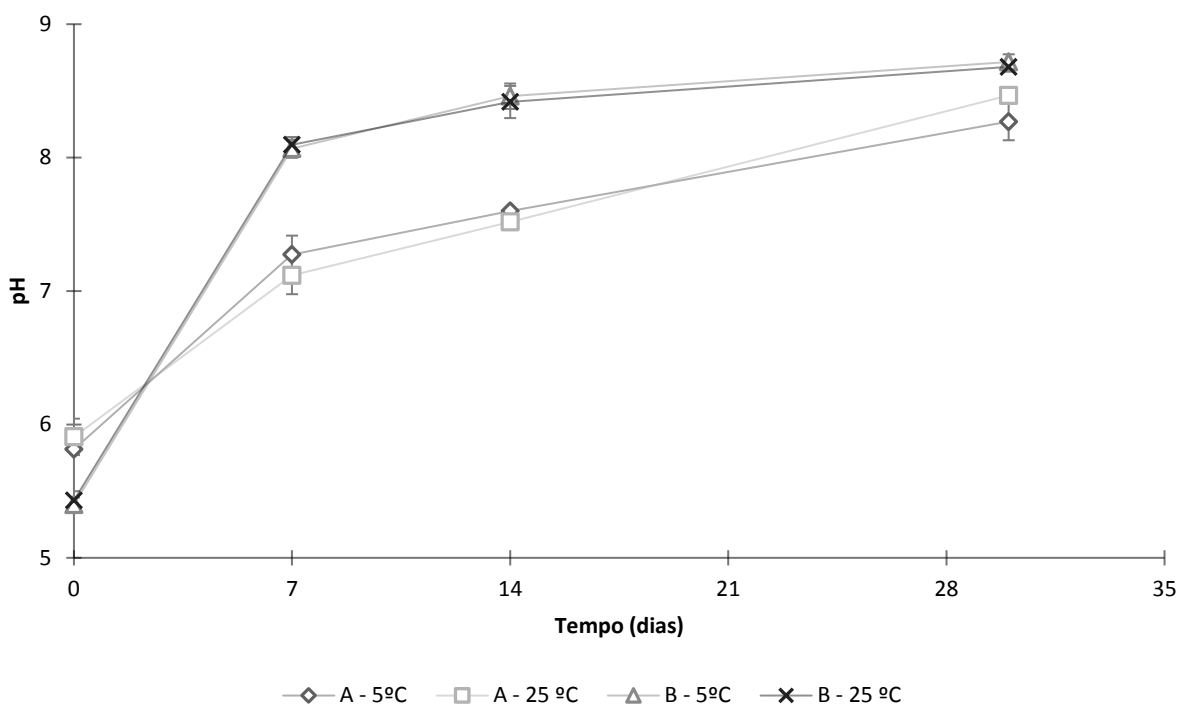
5.4.1.2 pH

O monitoramento do pH é um aspecto importante de um estudo de estabilidade, tendo em vista que o pH de veículos não tamponados pode mudar ao longo do tempo e uma significativa variação de pH acima do valor adequado pode modificar a estabilidade do medicamento, interferindo inclusive na sua solubilidade. Em alguns casos, a variação pode aumentar a degradação do fármaco, bem como modificar a aparência (ESTEVEZ et al., 2016; MUSKO; SZNITOWSKA, 2013).

As suspensões de SDZ A apresentaram variação de 5,81 a 8,47, enquanto as suspensões B variaram de 5,40 a 8,72, conforme Figura 12. Logo, as variações

apresentadas para todas as suspensões foram estatisticamente significativas ($p < 0,0001$), característico de formas farmacêuticas líquidas não tamponadas. Ressalta-se também que as suspensões de SDZ B apresentaram pH superiores a partir do dia 7 do estudo e não houve diferenças significativas entre as suspensões armazenadas em diferentes temperaturas de armazenamento ($p > 0,05$).

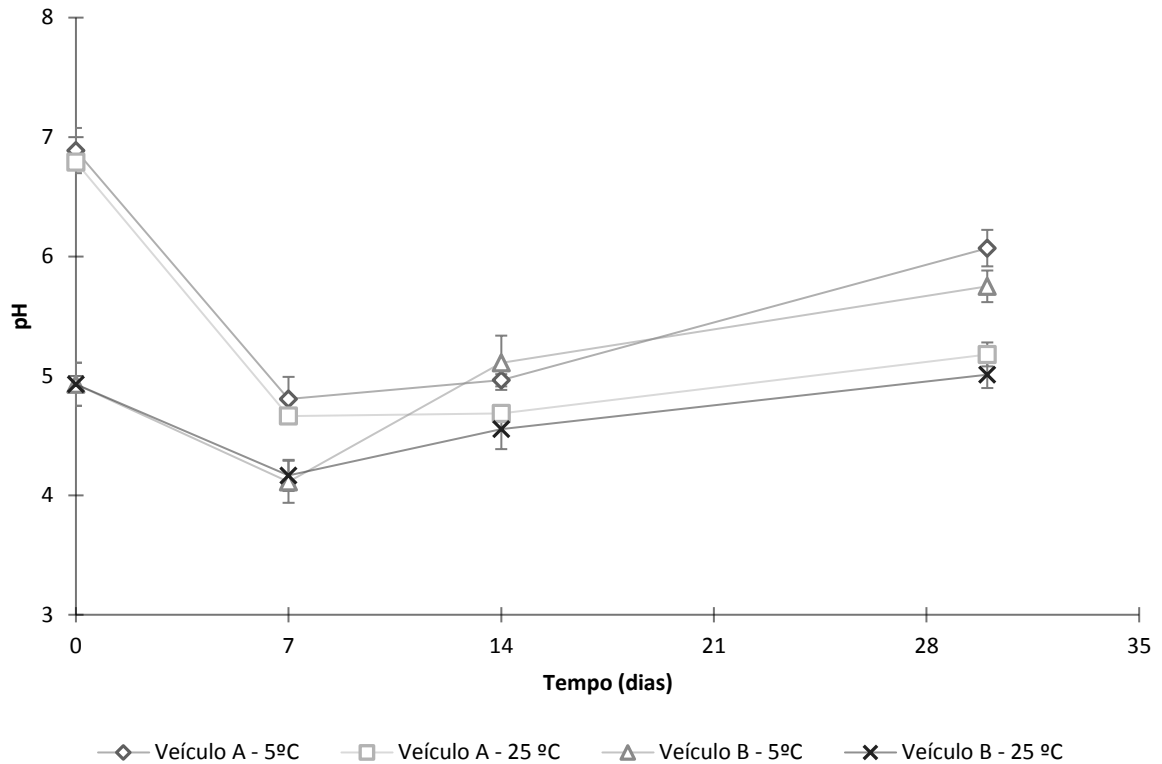
Figura 12 - Valores de pH das suspensões de SDZ A e B em 5 °C e 22,5 °C durante 30 dias



Fonte: O autor.

Simultaneamente também foi analisado o pH dos veículos, em que o veículo A apresentou pH inicial (dia zero) de 6,84, enquanto o veículo B de 4,93 (Figura 13). Esses valores indicam provavelmente que o pH inicial (dia zero) fracamente ácido provavelmente sofreu mais influência dos veículos utilizados. Dessa forma, pode-se inferir também que a presença dos comprimidos de SDZ são os responsáveis pelo pH alcalino da suspensão ao longo do tempo, uma vez que os veículos isolados não apresentaram tendência à alcalinização do meio.

Figura 13 - Valores de pH dos veículos A e B em 5 °C e 22,5 °C durante 30 dias



Fonte: O autor.

Pathmanathan et al. (2004) observaram que formulações líquidas preparadas com comprimidos de SDZ em água estéril para injeção apresentaram um pH neutro (6,9), enquanto formulações preparadas com a matéria-prima apresentaram um pH básico de 9,8, demonstrando a influência dos excipientes presentes nos comprimidos.

Em formulações líquidas, pH e temperatura são os maiores determinantes que afetam a taxa de hidrólise (GHULAM et al., 2007). Entretanto, estudos indicam que a taxa de degradação de SDZ é menor em pH alcalino, isso pode ser explicado pela presença de formas aniônicas em soluções alcalinas que são menos sensíveis a hidrólise comparada às formas neutras e catiônicas das sulfonamidas (ACOSTA-RANGEL et al., 2018; BIAŁK-BIELIŃSKA et al., 2012). Logo, as alterações de pH (tendência à alcalinização) não implicaram em degradação da SDZ, como pode ser

observado na baixa taxa de redução de teor no estudo de degradação básica forçada usando a CLUE.

Sulfonamidas existem em diferentes formas em função do pH, devido à sua natureza anfótera, porém suas características ácidas são mais pronunciadas (ACOSTA-RANGEL et al., 2018). É possível relacionar a solubilidade da droga ao pH da solução e ao seu pKa através da equação abaixo para drogas ácidas, considerando o pka de 6,99, onde S é a solubilidade total saturante e S0 é a solubilidade da droga não-dissociada, em mol/L (FLORENCE; ATTWOOD, 2011):

$$pH - pka = \log \frac{S - S_0}{S_0}$$

Logo, para os valores de pH apresentados a SDZ apresentou-se predominantemente na forma neutra no tempo zero e menos solúvel, enquanto a partir do tempo de sete dias a SDZ estava em sua forma aniônica mais solúvel pela desprotonação do grupo amida, já que o pH da formulação aumentou durante o estudo.

Os valores apresentados no estudo são aceitáveis para administração oral em crianças, uma vez que formulações líquidas para uso pediátrico disponíveis comercialmente apresentam desde pH ácido a básico (CAVALCANTI et al., 2013; MAGUIRE; BAQIR; NUNN, 2007; PASSOS et al., 2010; XAVIER et al., 2013).

Segundo Passos et al. (2010), medicamentos líquidos com pH baixos (pH < 5,5) podem acidificar o biofilme dental, promovendo ambiente adequado à reprodução de microrganismos oportunistas, acarretando em prejuízos na saúde bucal, principalmente para os casos de medicamentos com uso crônico, além da alta concentração de açúcar presente em xaropes, que pode ser prejudicial aos dentes. Nesse caso, as formulações apresentaram um pH superior a 5,5 e menores riscos de prejuízos à saúde bucal.

5.4.1.3 Tamanho de partícula

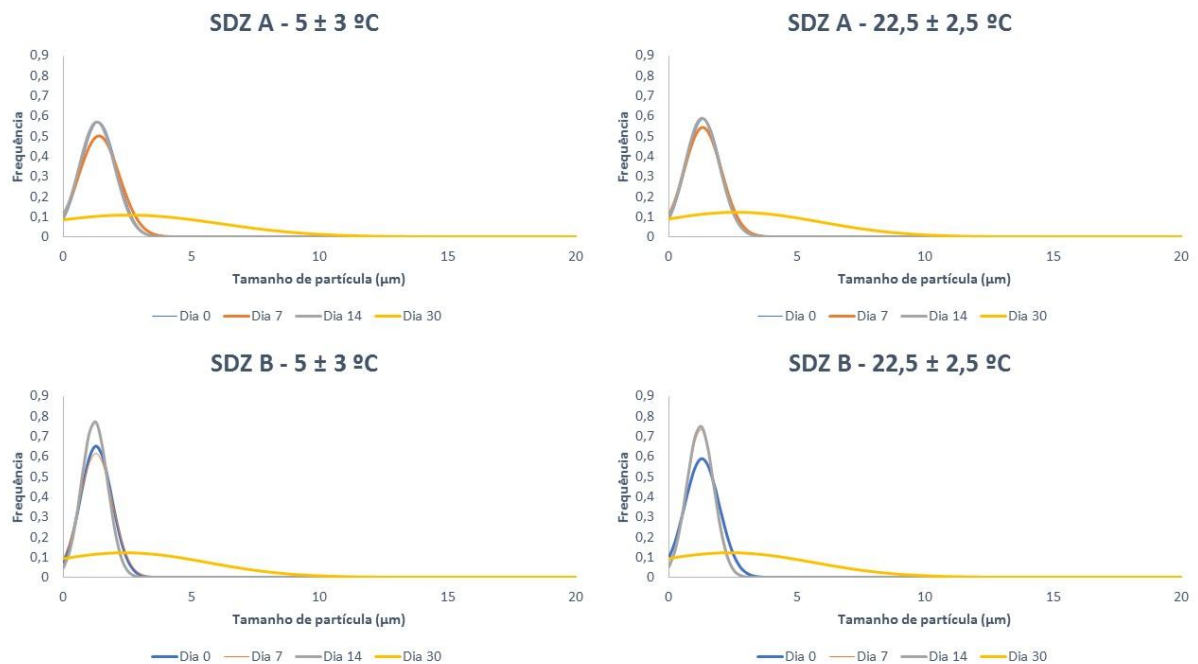
O microscópio é uma das técnicas mais antigas e utilizadas para mensurar as propriedades e estabilidade de uma suspensão e, mesmo sem associação à outras técnicas, pode ainda ser usado para estimar e detectar mudanças na distribuição do tamanho de partícula e formação de cristais (HAN et al., 2006).

Os excipientes presentes em comprimidos são na maioria das vezes insolúveis em água. Portanto, em muitos casos o sedimento das suspensões é formado apenas por excipientes dos comprimidos (MUSKO; SZNITOWSKA, 2013). Entretanto, a proporção de excipientes nos comprimidos de SDZ utilizados na pesquisa era baixa, compondo apenas aproximadamente 15% do peso dos comprimidos e apresentando influência limitada. Sabendo que a SDZ é praticamente insolúvel (DELRIVO; ZOPPI; LONGHI, 2012), a maior parte do sedimento era formada pelo princípio ativo.

Ambas formulações tinham partículas de tamanhos variados e irregulares, semelhantemente à outra suspensão preparada a partir de comprimidos (ESTEVEZ et al., 2016). Esse perfil pode ter influência do tamanho de partícula prévio do princípio ativo, determinado pela força de compressão no processo de fabricação do comprimido. O tamanho da partícula em suspensão pode afetar a uniformidade do conteúdo, uma vez que partículas grandes se depositam mais rapidamente, conforme a lei de Stokes. Igualmente, a distribuição do tamanho de partícula na forma farmacêutica do produto acabado é um parâmetro crítico que impacta significativamente a biodisponibilidade e a farmacocinética do princípio ativo (PROVENZA et al., 2014).

As suspensões de SDZ apresentaram um intervalo de variação entre 0,9 e 4,6 μm no dia inicial do estudo, indicando uma trituração padronizada e adequada para as formulações preparadas, inclusive devido à maior frequência de partículas de menor tamanho. Estão disponíveis na literatura suspensões extemporâneas com tamanhos de partículas superiores a 60 μm e também são consideradas com tamanhos satisfatórios (GARCÍA; MANZO; JIMENEZ-KAIRUZ, 2015; HAN et al., 2006; MENDES et al., 2013).

Figura 14 - Distribuição do tamanho de partícula nas suspensões de SDZ no período de 30 dias



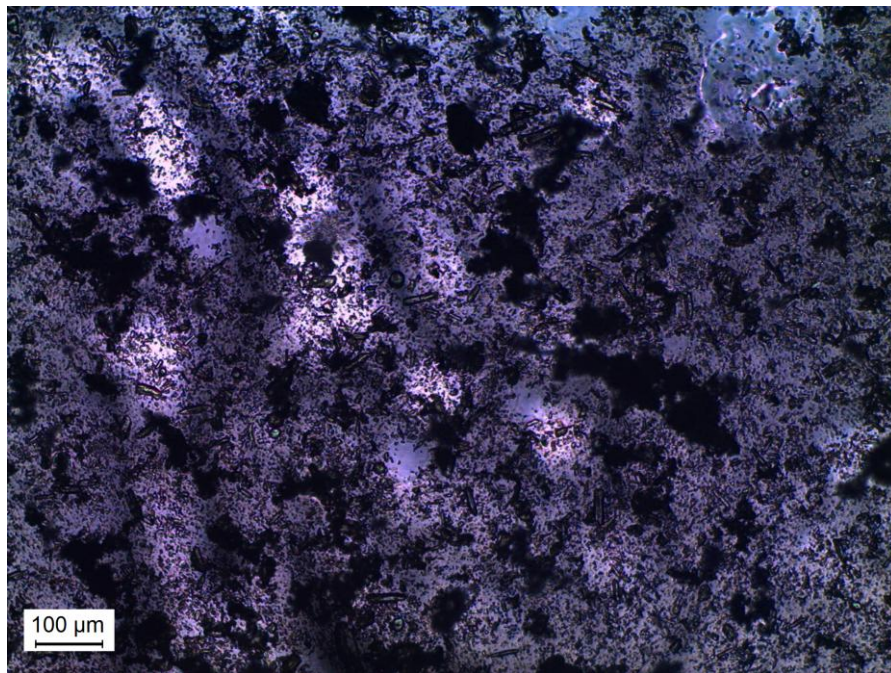
Fonte: O autor.

A distribuição do tamanho de partícula em todas as suspensões do estudo foi constante até o dia 14 ($p > 0,05$), conforme pode ser observado na Figura 14. As leves flutuações observadas nas curvas não são indicativas de alterações no tamanho de partícula, mas podem ser atribuídos às variações experimentais normais da técnica. Essa ausência de variabilidade desejada no tamanho de partícula foi observada em outros estudos com suspensões extemporâneas (ESTEVEZ et al., 2016; GARCÍA; MANZO; JIMENEZ-KAIRUZ, 2015).

Todavia, no dia 30 foi observada uma variedade maior entre os tamanhos de partícula e um elevado desvio padrão. Esse aumento no tamanho de partícula durante o armazenamento pode ter sido resultado de sedimentação, agregação de partículas ou crescimento de cristal. A presença de partículas maiores é um fator crítico para as formulações, pois elas tendem a apresentar baixa solubilidade e menores taxas de dissolução, conseqüentemente essas partículas tem menor biodisponibilidade no organismo. Isso tem maior significância para fármacos de baixa solubilidade, em que a dissolução é o passo limitante para a absorção, como é o caso da SDZ (HAN et al.,

2006). Ademais, a formação de sedimentos de maior dificuldade para redispersão implica em uma menor recuperação do fármaco, prejudicando, assim, a uniformidade de dose (SANTOVEÑA, Ana et al., 2016). Na Figura 15, pode-se observar o tamanho das partículas na suspensão de SDZ B após 30 dias em temperatura ambiente.

Figura 15 - Partículas da suspensão de SDZ B após 30 dias de armazenamento em temperatura ambiente

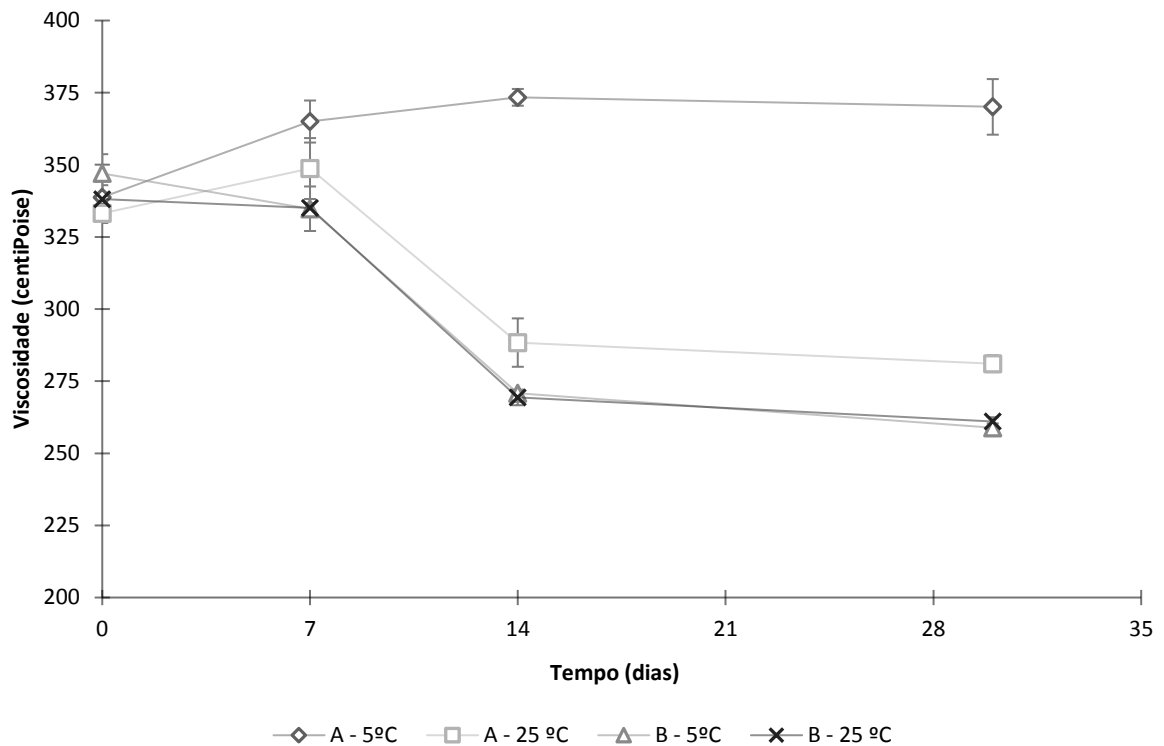


Fonte: O autor.

5.4.1.4 Viscosidade

Formulações líquidas também são avaliadas através das variações na viscosidade, porém critérios de aceitação de níveis de viscosidade não são definidos em compêndios oficiais. Os resultados das suspensões são apresentados em cP na Figura 16. As viscosidades dos veículos isolados também foram avaliados e estão apresentados na Figura 17.

Figura 166 - Variação da viscosidade das suspensões de SDZ A e B armazenadas em 5 °C e 22,5 °C durante trinta dias



Fonte: O autor

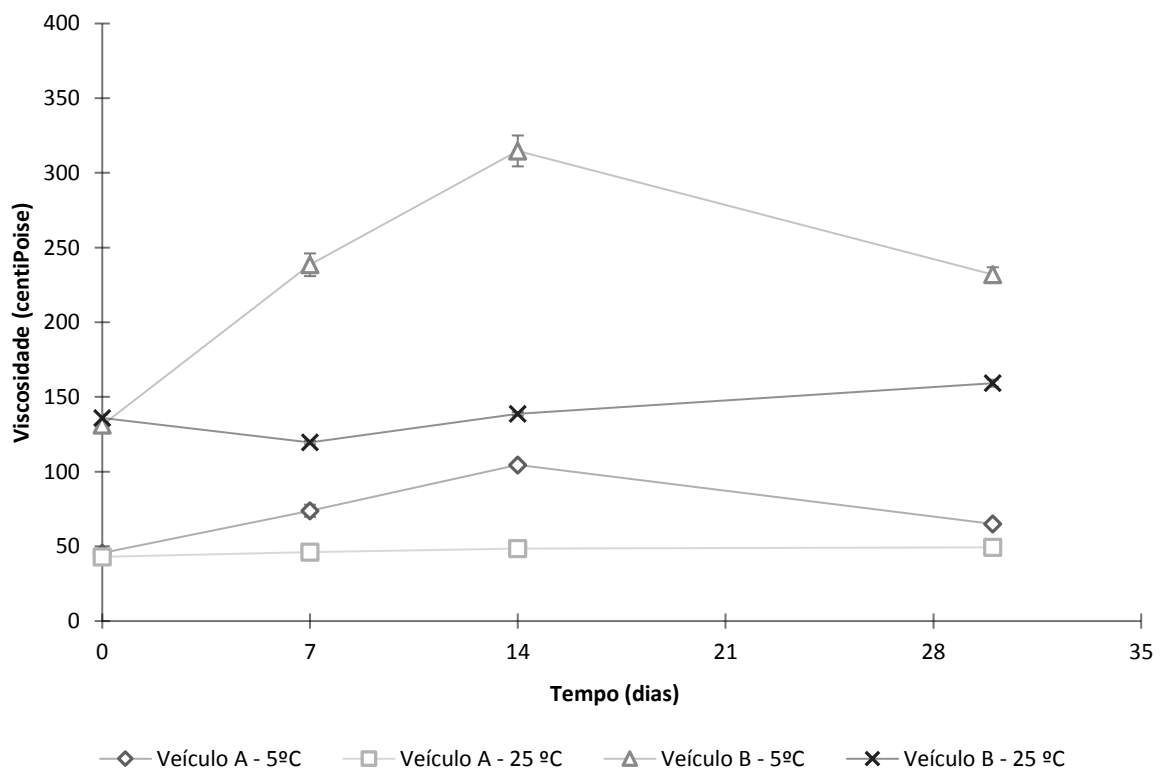
As suspensões de SDZ A apresentaram comportamentos diferentes a depender da temperatura de armazenamento ($p=0,0006$). A viscosidade das suspensões de SDZ A armazenadas sob refrigeração apresentaram aumento significativo ($p=0,0010$) ao longo dos 30 dias de estudo, enquanto as suspensões sob temperatura ambiente reduziram. Também houve aumento da viscosidade com o veículo A isolado. Segundo Telis et al. (2007), a viscosidade de soluções de carboidratos (nesse caso, sacarose) são dependentes da temperatura, logo, são menores em temperaturas maiores, sendo essa relação adequadamente descrita pelo modelo de Arrhenius.

Embora a refrigeração seja uma condição desejável para aumentar a estabilidade química e microbiológica de formulações líquidas, o aumento demasiado da viscosidade de uma suspensão, pode dificultar a ressuspensão (FRICIU et al., 2016). Ademais, aumentos na viscosidade podem ser indicativos de potencial

instabilidade das matrizes (ingredientes inativos ou inertes dos comprimidos e veículos líquidos) quando armazenadas em temperatura refrigerada (LI et al., 2016).

Os resultados apontaram que as suspensões de SDZ B, veiculadas em sorbitol, apresentaram perfis de viscosidade semelhantes ($p > 0,05$), apesar de armazenados em temperaturas distintas. Inclusive isso pode ser observado na Figura 16 quando as linhas correspondentes às suspensões de SDZ B a 5 °C e a 22,5 °C estão sobrepostas. Entretanto, o estudo apenas com o veículo B isolado apresentou resultados distintos. Sendo assim, a presença do pó triturado dos comprimidos foi o responsável pela viscosidade das suspensões.

Figura 17 - Variação da viscosidade dos veículos A e B armazenados em 5 °C e 22,5 °C durante trinta dias



Fonte: O autor.

As suspensões extemporâneas preparadas a partir de formas farmacêuticas sólidas encontradas na literaturas apresentam viscosidade abaixo de 100 cP (GARCÍA; MANZO; JIMENEZ-KAIRUZ, 2015; MUSKO; SZNITOWSKA, 2013),

aquelas com viscosidade superiores atribuíram à grande quantidade de massa do comprimido (SOSNOWSKA; WINNICKA; CZAJKOWSKA-KOŚNIK, 2009), aplicando-se também ao nosso estudo com comprimidos com peso médio de 587,81 mg.

Considera-se que a viscosidade deve ser alta o suficiente para minimizar a taxa de sedimentação; mas deve ser baixa para garantir o escoamento necessário do líquido para obter o volume da dose desejada. Logo, a alta viscosidade pode comprometer a retirada das doses dos recipientes, assim como também prejudicar a distribuição homogênea das suspensões, mesmo após agitação antes do uso.

5.4.1.5 Densidade

Os valores de densidade relativa média obtidos foram de 1,3140 g/mL e 1,3093 g/mL para as suspensões A e B, respectivamente, conforme pode ser observado na Tabela 16. Esses valores se aproximam à densidade de xaropes simples e sorbitol em temperatura ambiente em torno de 1,3 g/mL (THOMPSON, 2006). Estes valores foram importantes, pois as alíquotas de amostras foram pesadas para fins de análise, uma vez que devido a viscosidade o uso de medidas volumétricas comprometeriam a precisão do método analítico.

Tabela 16 - Densidade relativa das suspensões de SDZ A e B

Amostra	Densidade relativa (g/mL)	DP	DPR (%)
SDZ A	1,3140	0,0012	0,09
SDZ B	1,3093	0,0057	0,44

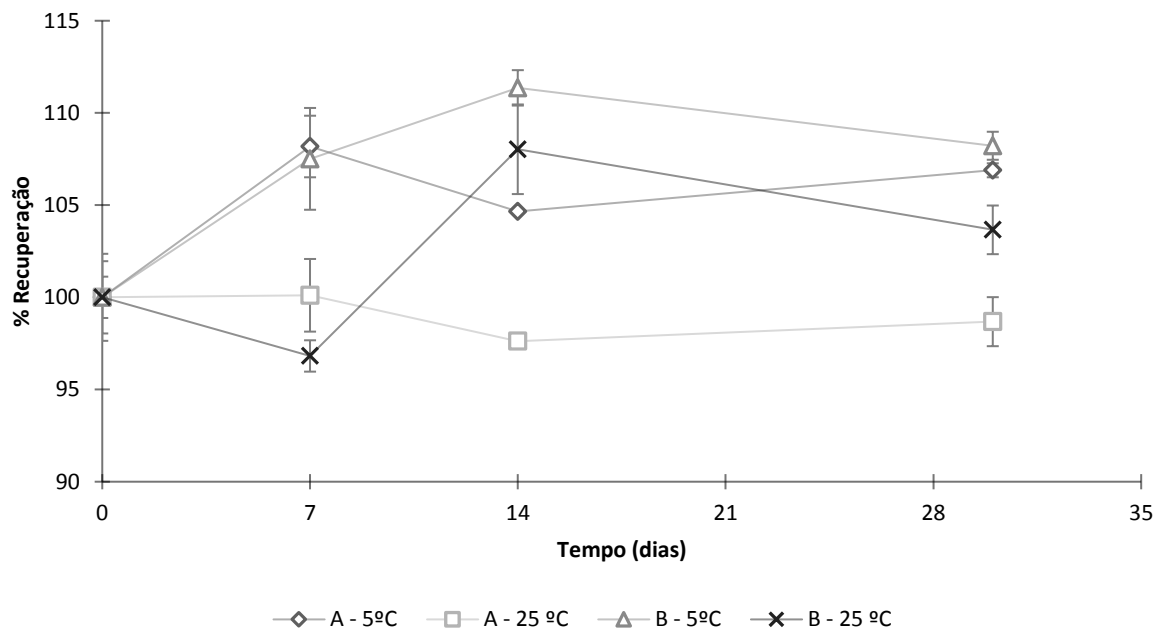
Fonte: O autor.

5.4.2 Estabilidade química

A estabilidade química de um fármaco em suspensão é normalmente controlada por meio da taxa de degradação do fármaco em questão, comparando à concentração do fármaco no início do estudo. Uma perda superior a 10% da concentração inicial do fármaco geralmente é considerada indicativo de instabilidade

(MENDES et al., 2013). No caso da SDZ, foi considerado que a suspensão deve conter não menos que 95% e não mais que 105% da concentração inicial (BRASIL, 2010b). Os resultados estão apresentados na Figura 18.

Figura 18 - Estabilidade química das suspensões de SDZ A e B armazenadas em 5 °C e 22,5 °C durante trinta dias



Fonte: O autor.

Durante o estudo de estabilidade, foi observado que as formulações apresentaram concentrações acima de 95% da concentração inicial, indicando estabilidade ao longo dos 30 dias. Ferreira et al. (2016) recuperaram apenas 92,58% da concentração inicial de SDZ em SyrSpend SF PH4 em 14 dias de estudo em temperatura ambiente (20 – 25 °C). Entretanto, as formulações de SDZ foram estáveis por até 90 dias em temperatura refrigerada. Nesse caso, apesar do resultado satisfatório, questiona-se o risco de exposição de neonatos às quantidades e diversidade de excipientes presentes neste veículo comercial pronto, a ausência de testes que garantam a qualidade microbiológica do produto, bem como o uso de matéria-prima garantindo interação menor entre excipientes e princípio ativo.

Observa-se que com o passar do tempo, há um aumento da concentração significativo, principalmente nas formulações armazenadas sob refrigeração entre o dia 0 e o dia 7. Ferreira et al. (2016) também encontraram taxas de recuperação acima de 105% da concentração inicial de SDZ em SyrSpend SF PH4 em 14 dias de estudo em temperatura refrigerada. Essas flutuações podem ser explicadas pelas variações na viscosidade, no tamanho de partículas e no pH de cada formulação que podem ter prejudicado a homogeneização da amostra. Sulfonamidas são fármacos anfóteros, mas as propriedades ácidas são mais acentuadas. Fármacos ácidos são mais solúveis em meios alcalinos, porque as formas ionizadas presentes podem interagir melhor com moléculas de água, logo a solubilidade cresce com o aumento de pH (FLORENCE; ATTWOOD, 2011). Tendo em vista que as variações de pH foram significativas, a solubilidade da SDZ no meio também variou, implicando na taxa de recuperação no método de doseamento.

5.4.3 Estabilidade microbiológica

A estabilidade microbiológica é fundamental para garantir a segurança em uma formulação extemporânea, prevenindo, portanto, doenças relacionadas à contaminação bacteriana ou fúngica, que é um aspecto crítico no tratamento de pacientes pediátricos e neonatais. Além disso, a contaminação microbiana em formulações líquidas não estéreis pode acarretar alterações em suas propriedades físicas e químicas, afetar negativamente a palatabilidade e a aparência, prejudicando o sucesso da terapia (ESTEVEZ et al., 2016; MENDES et al., 2013).

Houve crescimento de apenas 3 UFC/mL nas formulações de SDZ A em ágar de caseína soja nos tempos de 14 e 30 dias. Não foi observado crescimento microbiano em ágar Sabouraud-dextrose. Dessa forma, nossos resultados apresentaram-se dentro dos limites de aceitação estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira (2010a) para formulações líquidas não estéreis durante 30 dias. Segundo Santoveña-Estévez et al. (2018), o xarope simples 85% é estável microbiologicamente por 14 dias, sendo capaz de garantir a preservação antimicrobiana da formulação. Esse resultado concorda com a USP (2010), a qual recomenda que somente um prazo

de validade de 14 dias deve ser proposto quando a formulação manipulada líquida não contenha conservantes.

Formulações em xarope simples apresentam um alto teor de açúcar e quando preparadas incorretamente a quantidade de água disponível pode favorecer o crescimento de fungos e leveduras em meio ácido. Salgado et al. (2005) desenvolveram um xarope simples sem conservantes, o qual perdeu a qualidade microbiológica em apenas 3 dias quando foi detectado contaminação fúngica. Já não era esperado o crescimento de fungos e leveduras, pois requer um meio ácido, e as formulações de SDZ preparadas e analisadas aumentaram o pH ao longo do estudo (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2007). Entretanto, conforme relatado anteriormente, as formulações apresentaram resultados satisfatórios e se mostram adequadas para uso dentro do tempo estabelecido de 14 dias.

O patógeno *E. coli* não foi identificado em nenhuma das suspensões, semelhante a outros estudos com formulações a base de xarope simples (SALGADO et al., 2005).

Neste estudo, o preparo das formulações não foi realizado em condições estéreis, uma vez que as formulações são multidoses e serão expostas à contaminação ambiental após uma vez abertas. No entanto, para garantir o controle de qualidade microbiológico é necessário que medidas higiênicas sejam consideradas, conforme realizado neste estudo, caso contrário a contaminação por microrganismos pode ser maior que os resultados apresentados.

Caso seja necessário utilizar um teor reduzido de sacarose, a conservação pode ser prejudicada, logo sugere-se o uso mínimo de conservantes capazes de inibir suficientemente o crescimento microbiano, considerando a ocorrência de uma contaminação no produto. O xarope simples diluído (50:50) com água purificada acrescida de metilparabeno e propilparabeno nas proporções de 0,08% e 0,02% (p/p), respectivamente, garantem uma estabilidade de pelo menos 28 dias (SANTOVENIA-ESTÉVEZ et al., 2018). Outra alternativa é o uso de xarope simples acrescido de sorbato de potássio 0,2% (p/v) com qualidade microbiológica assegurada de 30 dias (SALGADO et al., 2005).

5 CONCLUSÕES

Atualmente, estudos sobre estabilidade de suspensões pediátricas geralmente avaliam apenas dados de estabilidade química. Porém, dados de estabilidade física e microbiológica também são necessários para assegurar a qualidade de uma suspensão.

Neste estudo, duas diferentes suspensões, SDZ em bases simples: uma de xarope simples 85% e metilcelulose 1% (p/v) (A); e uma de sorbitol 70% (B), foram preparadas e submetidas à avaliação de estabilidade física, química e microbiológica. Para determinar a concentração de SDZ nas formulações, foi desenvolvido um método em CLUE e validado conforme as exigências da RDC nº 166 de 24 de julho de 2017. Logo, o método foi considerado específico, linear, preciso, exato e robusto adequados à análise.

A partir dos resultados obtidos é possível concluir que a suspensão de SDZ A em temperatura ambiente foi considerada a melhor formulação dentre as estudadas, sendo estável do ponto de vista físico-químico e microbiológico por 14 dias, enquanto a suspensão de SDZ B foi estável por apenas 7 dias quando armazenada a 22,5 °C. Outro aspecto importante é que a refrigeração não proporcionou vantagens para o armazenamento das formulações.

Dessa forma, se faz necessário uma padronização nas formulações extemporâneas deste fármaco pelas farmácias de manipulação. Assim, podemos sugerir a inclusão desta formulação em protocolos do Ministério da Saúde, incluindo o prazo de validade, garantindo o sucesso terapêutico do tratamento.

REFERÊNCIAS

ACOSTA-RANGEL, A. et al. Sulfonamides degradation assisted by UV, UV/H₂O₂ and UV/K₂S₂O₈: efficiency, mechanism and byproducts cytotoxicity. **Journal of Environmental Management**, v. 225, p. 224–231, 2018.

ALLEN JR, L. V. **The Art, Science, and Technology of Pharmaceutical Compounding**. Washington: American Pharmaceutical Association, 1998.

ALLEN JR., L. V. Sulfadiazine 100-mg/mL Oral Suspension. **International Journal of Pharmaceutical Compounding**, v. 15, n. 15, p. 2011, 2011.

ALLEN JR, L. V.; POPOVICH, N. G. ANSEL, H. C. **Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**. 8^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2007.

AULTON, M. E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 2^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

BARBOSA, I. R.; HOLANDA, C. M. de C. X.; ANDRADE-NETO, V. F. Toxoplasmosis screening and risk factors amongst pregnant females in Natal, northeastern Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 103, n. 4, p. 377–382, 2009.

BENZI, J. R. D. L.; MASTROIANNI, P. de C. Analysis of extemporaneous oral liquid from commercially available drugs in hospital. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 52, n. 3, p. 517–525, 2016.

BIAŁK-BIELIŃSKA, A. et al. Hydrolysis of sulphonamides in aqueous solutions. **Journal of Hazardous Materials**, v. 221–222, p. 264–274, 2012.

BICHARA, C. N. C. et al. Incidence of congenital toxoplasmosis in the city of Belém, state of Pará, northern Brazil, determined by a neonatal screening program: preliminary results. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 1, p. 122–124, 2012.

BISCHOFF, A. et al. Incidence of Symptomatic Congenital Toxoplasmosis During 10 Years in a Brazilian Hospital. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 35, n. 12, p. 1313–1316, 2016.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**, volume 1/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010a. 546p.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**, volume 2/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010b. 904p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira**. 2^o ed. Brasília: ANVISA, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 67 de 8 de outubro de 2007**. Aprovar o Regulamento Técnico sobre Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para Uso Humano em farmácias

e seus anexos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, 09 out. 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 166 de 24 de julho de 2017**. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, 25 julho 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas e Estratégicas. **Atenção à Saúde do Recém-Nascido**: Guia para os profissionais de saúde. Vol. 2. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais**: RENAME 2017. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. 210p.

BRITTO, J. F. et al. Utilização De Preparações Magistrais Extemporâneas Em Pacientes Pediátricos De Um Hospital Público. **Saúde.com**, v. 13, n. 1, p. 797–805, 2017.

CAPOBIANGO, J. D. et al. Congenital toxoplasmosis in a reference center of Paraná, Southern Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 18, n. 4, p. 364–371, 2014.

CARELLOS, E. V. M. et al. Congenital toxoplasmosis in the state of Minas Gerais, Brazil: a neglected infectious disease? **Epidemiology and infection**, v. 142, n. 3, p. 644–655, 2014.

CAVALCANTI, A. et al. Evaluation of total soluble solids content (TSSC) and endogenous pH in antimicrobials of pediatric use. **Indian Journal of Dental Research**, v. 24, n. 4, p. 498, 2013.

CHUA, S. S.; CHUA, H. M.; OMAR, A. Drug administration errors in paediatric wards: A direct observation approach. **European Journal of Pediatrics**, v. 169, n. 5, p. 603–611, 2010.

CIOROIU, B. I. et al. Identification of specified impurities of silver sulfadiazine using a screening of degradation products in different stress physico-chemical media. **Talanta**, v. 116, p. 653–662, 2013.

COMMITTEE FOR HUMAN MEDICINAL PRODUCTS (CHMP). **Background review for the excipient propylene glycol**. London: European Medicines Agency, 2014.

CONDE-CID, M. et al. Degradation of sulfadiazine, sulfachloropyridazine and sulfamethazine in aqueous media. **Journal of Environmental Management**, v. 228, p. 239–248, 2018.

COSTA, P. Q.; COELHO, H. L. L.; REY, L. C. Lack of drug preparations for use in children in Brazil. **Jornal de Pediatria**, v. 0, n. 0, p. 229–235, 2009.

COSTA, P. Q.; LIMA, J. E. S.; COELHO, H. L. L. Prescrição e preparo de medicamentos sem formulação adequada para crianças: Um estudo de base

hospitalar. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 1, p. 57–66, 2009.

DELRIVO, A.; ZOPPI, A.; LONGHI, M. R. Interaction of sulfadiazine with cyclodextrins in aqueous solution and solid state. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 3, p. 1980–1988, 2012.

DMITRIENKO, S. G. et al. Recent advances in sample preparation techniques and methods of sulfonamides detection - A review. **Anal Chim Acta**, v. 850, p. 6–25, 2014.

DUBEY, J. P. et al. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. **Parasitology**, v. 139, n. 11, p. 1375–424, 2012.

ENGELS, M. J. et al. Standardization of compounded oral liquids for pediatric patients in Michigan. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 73, n. 13, p. 981–990, 2016.

ESTEVEZ, P. et al. Development and stability study of glibenclamide oral liquid paediatric formulations for the treatment of permanent neonatal diabetes mellitus. **European Journal of Hospital Pharmacy**, v. 23, n. 4, p. 213–218, 2016.

FAGRON. **SyrSpend® SF**. Disponível em:

<https://br.fagron.com/sites/default/files/page/attachment/syrspendsf.pdf> Acesso em: 20/08/2018

FEREZIN, R. I.; BERTOLINI, D. A.; DEMARCHI, I. G. Prevalência de sorologia positiva para HIV, hepatite B, toxoplasmose e rubéola em gestantes do noroeste paranaense. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 35, n. 2, p. 66–70, 2013.

FERNANDEZ, E. et al. Factors and mechanisms for pharmacokinetic differences between pediatric population and adults. **Pharmaceutics**, v. 3, n. 1, p. 53–72, 2011.

FERREIRA, A. O. **Guia prático da farmácia magistral**. 3ª ed. São Paulo: Pharmabooks, 2010.

FERREIRA, A. O.; SOUZA, G. F. **Preparações Oraís Líquidas**: formulário, procedimento de preparo, flavorização, estabilidade e conservação. 3ª ed. São Paulo: Pharmabooks Editora, 2011.

FERREIRA, A. O. et al. Feasibility of amlodipine besylate, chloroquine phosphate, dapsone, phenytoin, pyridoxine hydrochloride, sulfadiazine, sulfasalazine, tetracycline hydrochloride, trimethoprim and zonisamide in SyrSpend® SF PH4 oral suspensions. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 118, p. 105–112, 2016.

FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. **Princípios Físico-Químicos em Farmácia**. 2ª ed. São Paulo: Pharmabooks, 2011.

FRICIU, M. et al. Stability of Diazoxide in Extemporaneously Compounded Oral Suspensions. **Plos One**, v. 11, n. 10, p. e0164577, 2016.

FRICIU, M.; ROULLIN, V. G.; LECLAIR, G. Stability of Gabapentin in Extemporaneously Compounded Oral Suspensions. **Plos One**, v. 12, n. 4, p. e0175208, 2017.

GARCÍA, M. C.; MANZO, R. H.; JIMENEZ-KAIRUZ, A. F. Extemporaneous benznidazole oral suspension prepared from commercially available tablets for treatment of Chagas disease in paediatric patients. **Tropical Medicine & International Health**, v. 20, n. 7, p. 864–870, 2015.

GENNARO, A. R. **Remington: A Ciência e a Prática da Farmácia**. 20^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

GHANEM, M.; ABU-LAFI, S.; MOHAMMAD, D. Validated and stability indicating HPLC method for the simultaneous determination of Sulfadiazine sodium, Sulfathiazole sodium and sulfadimidine sodium in water soluble powder dosage form. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. SUPPL 3, p. 547–554, 2013.

GHANEM, M. M.; ABU-LAFI, S. A. Development and validation of a stability-indicating HPLC method for the simultaneous determination of sulfadiazine sodium and Trimethoprim in injectable solution formulation. **Scientia Pharmaceutica**, v. 81, n. 1, p. 167–182, 2013.

GHULAM, A. et al. Poor preservation efficacy versus quality and safety of pediatric extemporaneous liquids. **Annals of Pharmacotherapy**, v. 41, n. 5, p. 857–860, 2007.

GLASS, B. D.; HAYWOOD, A. Stability considerations in liquid dosage forms extemporaneously prepared from commercially available products. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 9, n. 3, p. 398–426, 2006.

GONÇALVES, A. C. D. S.; CAIXETA, C. M.; REIS, A. M. M. Análise da utilização de medicamentos antimicrobianos sistêmicos em crianças e adolescentes em dois hospitais de ensino. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, n. 2, p. 177–182, 2009.

GUMUSTAS, M. et al. UPLC versus HPLC on Drug Analysis: Advantageous, Applications and Their Validation Parameters Power of Small Particles. **Chromatographia**, v. 76, p. 1365–1427, 2013.

HAN, J. et al. Physical and microbial stability of extemporaneous tacrolimus suspension for paediatric use. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, v. 31, p. 167–172, 2006.

HAYWOOD, A.; GLASS, B. D. Liquid dosage forms extemporaneously prepared from commercially available products - Considering new evidence on stability. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 16, n. 3, p. 441–455, 2013.

HILAL-DANDAN, R.; BRUNTON, L. L. **Manual de farmacologia e terapêutica de Goodman & Gilman**. 2^a ed. Porto Alegre: AMGH, 2015.

INAGAKI, A. D. D. M. et al. Birth prevalence and characteristics of congenital toxoplasmosis in Sergipe, North-east Brazil. **Tropical Medicine and International Health**, v. 17, n. 11, p. 1349–1355, 2012.

KAYE, A. Toxoplasmosis: Diagnosis, treatment, and prevention in congenitally exposed infants. **Journal of Pediatric Health Care**, v. 25, n. 6, p. 355–364, 2011.

KUMAR, A. et al. UPLC: a preeminent technique in pharmaceutical analysis. **Acta**

Poloniae Pharmaceutica - Drug Research, v. 69, n. 3, p. 371–380, 2012.

LAJOINIE, A. et al. Oral drug dosage forms administered to hospitalized children: Analysis of 117,665 oral administrations in a French paediatric hospital over a 1-year period. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 500, p. 336–344, 2016.

LEWIS, P. O. et al. Stability of a pyrimethamine suspension compounded from bulk powder. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 74, n. 24, p. 2060–2064, 2017.

LI, Q. et al. Stability of extemporaneous erlotinib, lapatinib, and imatinib oral suspensions. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 73, n. 17, p. 1331–1337, 2016.

LIU, F. et al. Formulation factors affecting acceptability of oral medicines in children. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 492, n. 1–2, p. 341–343, 2015.

MAGUIRE, A.; BAQIR, W.; NUNN, J. H. Are sugars-free medicines more erosive than sugars-containing medicines? An in vitro study of paediatric medicines with prolonged oral clearance used regularly and long-term by children. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 17, p. 231–238, 2007.

MARINHO, R. N. A.; CABRAL, C. H. K. Estudo de Adaptações de Formulações Farmacêuticas em um Hospital Universitário Pediátrico. **Revista Brasileira de Farmácia Hospitalar e Serviços de Saúde**, v. 5, n. 3, p. 12–17, 2014.

MCAULEY, J. B. Congenital toxoplasmosis. **Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society**, v. 3, n. Suppl1, p. 30–35, 2014.

MENDES, C. et al. Physicochemical and microbiological stability studies of extemporaneous antihypertensive pediatric suspensions for hospital use. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 18, n. 4, p. 813–820, 2013.

MOSER, P.; CORNELIO, M. L.; TELIS, V. R. N. Influence of the concentration of polyols on the rheological and spectral characteristics of guar gum. **LWT - Food Science and Technology**, v. 53, p. 29–36, 2013.

MOURA, F. L. et al. Prevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* infection among pregnant and postpartum women attended at public healthcare facilities in the City of Niterói, State of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 2, p. 200–207, 2013.

MUSKO, M.; SZNITOWSKA, M. Stability of extemporaneous pediatric oral liquids compounded from tablets and drug substance: case of propranolol and theophylline. **Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research**, v. 70, n. 1, p. 137–145, 2013.

NAHATA, M. Pediatric drug formulations: challenges and potential solutions. **Annals of Pharmacotherapy**, v. 33, n. 2, p. 247–249, 1999.

NAHATA, M. C.; ALLEN JR., L. V. Extemporaneous Drug Formulations. **Clinical Therapeutics**, v. 30, n. 11, p. 2112–2119, 2008.

NISSEN, L. M.; HAYWOOD, A.; STEADMAN, K. J. Solid Medication Dosage Form Modification at the Bedside and in the Pharmacy of Queensland Hospitals. **Journal of**

Pharmacy Practice and Research, v. 39, n. 2, p. 129–134, 2009.

PASSOS, I. A. et al. Sucrose concentration and pH in liquid oral pediatric medicines of long-term use for children. **Rev Panam Salud Publica**, v. 27, n. 2, p. 132–137, 2010.

PATHMANATHAN, U. et al. Stability of sulfadiazine oral liquids prepared from tablets and powder. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 7, n. 1, p. 84–87, 2004.

PAYNE, M. L.; CRAIG, W. J.; WILLIAMS, A. C. Sorbitol is a possible risk factor for diarrhea in young children. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 97, n. 5, p. 532–534, 1997.

PEREIRA, A. C. de S. et al. Medicamentos magistrais em recém nascidos e crianças hospitalizados. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 34, n. 4, p. 403–407, 2016.

PERRIGO. **Pharmaceutical Compounding**. Disponível em:
<https://www.perrigo.com/business/education.aspx> Acesso em: 20/08/2018

PETRI JR, W.A. Sulfonamidas, trimetoprima-sulfametoxazol, quinolonas e agentes para infecções do trato urinário. In: BRUNTON, L.L.; CHABNER, B.A.; KNOLLMANN, B.C. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman**. Porto Alegre: AMGH, 2012. P. 1963-1976.

PROVENZA, N. et al. Design and physicochemical stability studies of paediatric oral formulations of sildenafil. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 460, n. 1–2, p. 234–239, 2014.

QIN, M. et al. What are the differences between aerobic and anaerobic toxic effects of sulfonamides on Escherichia coli? **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 41, p. 251–258, 2016.

RAJAPAKSE, S. et al. Antibiotics for human toxoplasmosis: a systematic review of randomized trials. **Pathogens and Global Health**, v. 107, n. 4, p. 162–169, 2013.

RAMOS, S. V. V. **Validação da metodologia analítica aplicada ao controle de qualidade microbiológica de formas farmacêuticas líquidas e determinação da eficácia de conservantes**. 2010. 164 f. Universidade Federal de Pernambuco, 2010.

REBELLO, F. R. **Otimização e verificação dos métodos microbiológicos empregados no controle de qualidade de medicamentos de uso oral Rio de Janeiro , RJ**. 2015. 84 f. Instituto de tecnologia em fármacos, 2015.

RIET-NALES, D. A. Van et al. Safe and effective pharmacotherapy in infants and preschool children: importance of formulation aspects. **Archives of Disease in Childhood**, v. 101, p. 662–669, 2016.

SALGADO, A. C. et al. Stability of spironolactone in an extemporaneously prepared aqueous suspension. **European Journal of Hospital Pharmacy Science**, v. 11, n. January, p. 68–73, 2005.

SAM, T. et al. A benefit/risk approach towards selecting appropriate pharmaceutical dosage forms-An application for paediatric dosage form selection. **International**

Journal of Pharmaceutics, v. 435, p. 115–23, 2012.

SANTOVEÑA-ESTÉVEZ, A. et al. Effectiveness of Antimicrobial Preservation of Extemporaneous Diluted Simple Syrup Vehicles for Pediatrics. **The Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics**, v. 23, n. 5, p. 405–409, 2018.

SANTOVEÑA, A. et al. Development of a novel physico-chemically and microbiologically stable oral solution of flecainide for pediatrics. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 7450, n. September, p. 1–8, 2016.

SANTOVEÑA, A.; HERNÁNDEZ-PAIZ, Z.; FARIÑA, J. B. Design of a pediatric oral formulation with a low proportion of hydrochlorothiazide. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 423, n. 2, p. 360–364, 2012.

SHIRKEY, H. Editorial comment: therapeutic orphans. **Journal of Pediatrics**, v. 72, p.119-20. 1968.

SILVA, A. V. A. et al. Presença de excipientes com potencial para indução de reações adversas em medicamentos comercializados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 3, p. 397–405, 2008.

SILVA, M. G.; VINAUD, M. C.; CASTRO, A. M. Prevalence of toxoplasmosis in pregnant women and vertical transmission of *Toxoplasma gondii* in patients from basic units of health from Gurupi, Tocantins, Brazil, from 2012 to 2014. **PLoS ONE**, v. 10, n. 11, p. 1–16, 2015.

SINGH, S. Congenital toxoplasmosis: Clinical features, outcomes, treatment, and prevention. **Tropical Parasitology**, v. 6, n. 2, p. 113–122, 2016.

SOSNOWSKA, K.; WINNICKA, K.; CZAJKOWSKA-KOŚNIK, A. Stability of extemporaneous enalapril maleate suspensions for pediatric use prepared from commercially available tablets. **Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research**, v. 66, n. 3, p. 321–326, 2009.

SOUZA, G. B. **Manipulação magistral de medicamentos em pediatria**. São Paulo: Pharmabooks, 2003.

TELIS, V. R. N. et al. Viscosity of aqueous carbohydrate solutions at different temperatures and concentrations. **International Journal of Food Properties**, v. 10, n. 2007, p. 185–195, 2007.

THOMPSON, J. E. *A prática farmacêutica na manipulação de medicamentos*. Porto Alegre: Artmed, 2006.

VAN DER VOSSSEN, A. C. et al. Design and stability study of an oral solution of amlodipine besylate for pediatric patients. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 92, p. 220–223, 2016.

VAN DER VOSSSEN, A. C. et al. Formulating a poorly water soluble drug into an oral solution suitable for paediatric patients; lorazepam as a model drug. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, p. 205–210, 2017.

WALCH, A. C. C. et al. Oral dosage form administration practice in children under 6 years of age: A survey study of paediatric nurses. **International journal of**

pharmaceutics, v. 511, n. 2, p. 855–863, 2016.

XAVIER, A. F. C. et al. Erosive and cariogenicity potential of pediatric drugs: study of physicochemical parameters. **BMC Oral Health**, v. 13, n. 71, 2013.

ZAID, A. N. et al. Compounding and stability evaluation of atorvastatin extemporaneous oral suspension using tablets or pure powder. **European Journal of Hospital Pharmacy**, v. 24, n. 3, p. 157–161, 2017.