

Universidade Federal do Rio Grande Do Sul
Faculdade de Farmácia
Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso

Camilo Marques D'Amore

**Desenvolvimento e Avaliação da Estabilidade Físico-Química e Microbiológica
de Suspensões Orais de Fluconazol para Uso Hospitalar.**

Porto Alegre/RS

2018

Camilo Marques D'Amore

Desenvolvimento e Avaliação da Estabilidade Físico-Química e Microbiológica de Suspensões Oraís de Fluconazol para Uso Hospitalar.

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Farmacêutico.

Orientador: Prof. Dr Martin Steppe

Coorientadora: Me. Elisa de Saldanha Simon

Porto Alegre/RS

2018

Aos professores que foram, acima de tudo, mentores, e me guiaram de forma brilhante até aqui;

Às meninas de 2011/1 que iniciaram essa trajetória comigo e seguem presentes até hoje;

À turma de 2013/1 que me acolheu com muito carinho e conclui a graduação junto comigo;

Aos farmacêuticos com quem tive o privilégio de trabalhar, responsáveis por me fazer enxergar além da academia e me colocar em contato com o meu eu profissional;

Aos orientadores e colaboradores desse trabalho, por todo empenho e disponibilidade para me auxiliar com as mais diversas questões;

Aos meus amigos, que seguem tão presentes apesar da distância e trazem luz à minha vida;

Aos meus pais e meu irmão, por todo o amor incondicional que me dão;

Minha mais profunda gratidão.

RESUMO

O fluconazol é um fármaco antifúngico da classe dos triazóis, uma das classes mais importantes no tratamento de micoses cutâneas e sistêmicas. Esse fármaco é comercializado na forma de cápsulas, soluções injetáveis e pós para suspensão oral. O Hospital de Clínicas de Porto Alegre, para atender às necessidades de seus pacientes, realiza derivação de cápsulas de fluconazol para obter uma formulação líquida oral de fácil administração e com possibilidade de ajuste de dose. Com o intuito de substituir a derivação por uma formulação produzida a partir de insumo farmacêutico ativo, esse trabalho buscou desenvolver e avaliar a estabilidade físico-química e microbiológica de uma formulação oral líquida contendo fluconazol, bem como demonstrar adequabilidade de método analítico cromatográfico compendial utilizado para doseamento da formulação. Sete diferentes formulações foram produzidas e avaliadas quanto ao pH, viscosidade e volume de sedimentação. Se demonstrou adequabilidade de método analítico para determinar o teor das formulações por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência através dos parâmetros de seletividade, linearidade, precisão e exatidão. Duas formulações mais promissoras foram preparadas na Farmácia Semi-Industrial do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e acondicionadas em frasco PET âmbar, que foram armazenados sob três diferentes condições: em temperatura ambiente, sob refrigeração (2 a 8 °C) e em estufa (40 °C). Foram coletadas amostras nos dias 0, 7 e 14 para avaliar a estabilidade físico-química, analisando seus teores, pH e aspectos macroscópicos. Amostras foram coletadas nos dias 0 e 21 para analisar a estabilidade microbiológica. Foi possível demonstrar estabilidade físico-química e microbiológica para uma das formulações por um período de 14 dias. Os resultados desse estudo sugerem a incorporação de uma nova formulação líquida de uso oral contendo fluconazol ao portfólio da Farmácia Semi-Industrial, substituindo a derivação que já vinha sendo utilizada.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Estrutura molecular do Fluconazol..... | 10 |
| Figura 2 - Mecanismo de ação dos fármacos da classe dos triazóis. | 11 |
| Figura 3 - (a) Cromatograma obtido para padrão de fluconazol 100 µg/mL nas condições cromatográficas utilizadas. (b) Espectro de absorção do padrão de fluconazol em 260 nm. (c) Pureza de pico obtida para o padrão de fluconazol. | 25 |
| Figura 4 - Cromatogramas obtidos para a Formulação 6 (a) e formulação placebo (b). Fase móvel composta por acetonitrila e tampão fosfato de potássio monobásico 20 mM pH 2,5 (80:20) em condição isocrática com vazão de 1,5 mL/min, injeção de 50 µL, detector UV a 260 nm, coluna Zorbax Eclipse Plus C18 Agilent® (150 mm x 4,6 mm x 5 µm), análises realizadas em temperatura ambiente. Picos em 0,935 min e 1,335 min identificados como diluente, pico em 3,491 min identificado como fluconazol. | 26 |
| Figura 5 - Regressão linear obtida para soluções padrão de fluconazol pelo método cromatográfico utilizado. | 28 |
| Figura 6 - Dispersão dos resíduos padrão da linearidade do método cromatográfico. | 28 |
| Figura 7 - Representação gráfica dos teores obtidos no estudo de estabilidade para as Formulações 6 (a) e 7 (b). Em preto, frascos armazenados em temperatura ambiente. Em azul, frascos armazenados sob refrigeração (2 - 8 °C). Em vermelho, frascos armazenados em estufa (40 °C) | 32 |
| Figura 8 - Aspecto macroscópico da Formulação 6 armazenada nas diferentes condições de temperatura após cada tempo de análise. | 34 |
| Figura 9 - Aspecto macroscópico da Formulação 7 armazenada nas diferentes condições de temperatura após cada tempo de análise. | 35 |

Figura 10 - À direita, separação de fases observada após 14 dias de estabilidade na
Formulação 7. À esquerda, Formulação 6 com o mesmo tempo de estabilidade para
fins comparativos.35

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Composição das suspensões de fluconazol 50 mg/mL..... | 16 |
| Tabela 2 - Valores médios de pH, viscosidade e torque obtidos para as diferentes formulações preparadas contendo fluconazol..... | 22 |
| Tabela 3 - Volume de sedimentação calculado através dos volumes de sedimento formados em cada formulação ao longo de 7 dias de acompanhamento. | 23 |
| Tabela 4 - Resultados obtidos para amostras de fluconazol utilizadas para avaliação da precisão do método analítico..... | 29 |
| Tabela 5 - Valores das recuperações obtidas em amostras acrescidas de padrão de fluconazol para avaliação da exatidão do método analítico. | 30 |
| Tabela 6 - Valores obtidos das análises quantitativas das formulações armazenadas em temperatura ambiente, sob refrigeração (2 - 8 °C) e em estufa (40°) ao longo do estudo de estabilidade. | 31 |
| Tabela 7 - Valores obtidos para as análises de pH das Formulações 6 e 7 armazenadas em temperatura ambiente, sob refrigeração (2 - 8 °C) e em estufa (40 °C) durante o estudo de estabilidade. | 33 |
| Tabela 8 - Determinação de bactérias aeróbicas, bolores, leveduras e micro-organismos patógenos nas Formulações 6 e 7 no momento do preparo e ao final de 21 dias de armazenamento sob diferentes condições de temperatura. | 37 |

Sumário

| | |
|---|----|
| 1. Introdução | 9 |
| 2. Objetivos | 14 |
| 2.1. Objetivo Geral | 14 |
| 2.2. Objetivos Específicos | 14 |
| 3. Materiais e Métodos | 15 |
| 3.1. Equipamentos | 15 |
| 3.2. Reagentes | 15 |
| 3.3. Matérias-Primas | 15 |
| 3.4. Desenvolvimento de Formulação | 16 |
| 3.4.1. Análise de pH | 16 |
| 3.4.2. Análise de Viscosidade | 16 |
| 3.4.3. Volume de Sedimentação | 17 |
| 3.5. Adequabilidade de Método Analítico | 17 |
| 3.5.1. Sistema Cromatográfico | 17 |
| 3.5.2. Seletividade | 18 |
| 3.5.3. Linearidade | 18 |
| 3.5.4. Precisão | 18 |
| 3.5.5. Exatidão | 19 |
| 3.6. Estudo de Estabilidade | 19 |
| 3.6.1. Doseamento | 20 |
| 3.6.2. Análise de pH | 20 |
| 3.6.3. Análise Macroscópica | 20 |
| 3.6.4. Ensaio Microbiológico | 20 |
| 4. Resultados e Discussão | 21 |
| 4.1. Desenvolvimento de Formulação | 21 |
| 4.1.1. pH e Viscosidade | 21 |
| 4.1.2. Volume de Sedimentação | 22 |
| 4.2. Adequabilidade de Método Analítico | 24 |
| 4.2.1. Sistema Cromatográfico | 24 |
| 4.2.2. Seletividade | 25 |

| | | |
|--------|------------------------|----|
| 4.2.3. | Linearidade | 26 |
| 4.2.4. | Precisão | 28 |
| 4.2.5. | Exatidão | 29 |
| 4.3. | Estudo de Estabilidade | 30 |
| 4.3.1. | Doseamento | 30 |
| 4.3.2. | Análise de pH | 32 |
| 4.3.3. | Análise Macroscópica | 33 |
| 4.3.4. | Ensaio Microbiológico | 36 |
| 5. | Conclusão | 38 |
| 6. | Referências | 39 |

1. Introdução

O Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) é uma instituição pública e universitária, integrante da rede de hospitais universitários do Ministério da Educação e vinculada academicamente à Universidade Federal do Rio Grande do Sul. O hospital possui, dentro do seu Serviço de Farmácia, a Farmácia Semi-Industrial (FSI), local onde são preparadas formulações magistrais e derivações a partir de formas farmacêuticas sólidas (GOBETTI, 2017).

Grande parte das formulações produzidas pela FSI é de apresentação líquida. Seu preparo é relativamente simples e tal produto proporciona versatilidade de uso, podendo ser facilmente utilizado como multidoso. Além disso, uma mesma formulação pode ter sua dose ajustada em função do volume administrado ao paciente, atendendo as mais diversas necessidades encontradas (GOBETTI, 2017; NAHATA; ALLEN, 2008).

Tomando como exemplo o paciente pediátrico, a maioria dos produtos disponíveis no mercado não foi planejada para atender esse indivíduo, uma vez que ela se encontra em formas sólidas orais de dosagem fixa. Impossibilidade de deglutição e necessidade de doses dependentes de peso ou superfície corporal são fatores que impedem o uso desses produtos em crianças e recém-nascidos (GOBETTI, 2017; NAHATA; ALLEN, 2008). Tais características podem ser modificadas, preparando soluções ou suspensões orais a partir de formas sólidas ou mesmo do próprio insumo farmacêutico ativo (GIAM; MCLACHLAN, 2008). Essa prática costuma ser adotada quando especialidades farmacêuticas disponíveis de determinado medicamento não atendem às necessidades do paciente, seja ela devido a uma dose especial, via de administração alternativa, etc (BAUMER *et al.*, 2011).

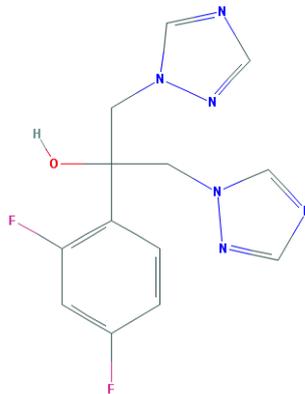
O Hospital de Clínicas de Porto Alegre possui alta demanda de pacientes com necessidades específicas em relação à dosagem e administração de medicamentos, como pacientes pediátricos, transplantados e em uso de sondas. Para atender esse público, a Farmácia Semi-Industrial realiza manipulações ou derivações farmacêuticas com o critério de que o produto em questão deve possuir estudo de estabilidade na literatura. Esses estudos se fazem necessários para verificar a forma correta de preparo, a embalagem a ser utilizada, as condições de armazenamento e o tempo de

estabilidade da formulação (AYERS, M. V., 2016; BRASIL, 2005;). Dentre os produtos que compõem o portfólio da FSI, encontra-se o fluconazol.

O fluconazol é um fármaco antifúngico da classe dos triazóis, uma das classes mais importantes no tratamento de micoses cutâneas e sistêmicas (CASTRO *et al.*, 2015), conhecido desde 1983 com a aquisição da patente pela Pfizer (CYR *et al.*, 1996).

A estrutura de sua molécula pode ser visualizada na Figura 1. O Fluconazol é uma substância química pouco solúvel em água e facilmente solúvel em metanol, com peso molecular de 306,27 g/mol (CHAROO *et al.*, 2014; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010; PUBCHEM, 2018).

Figura 1 - Estrutura molecular do Fluconazol.

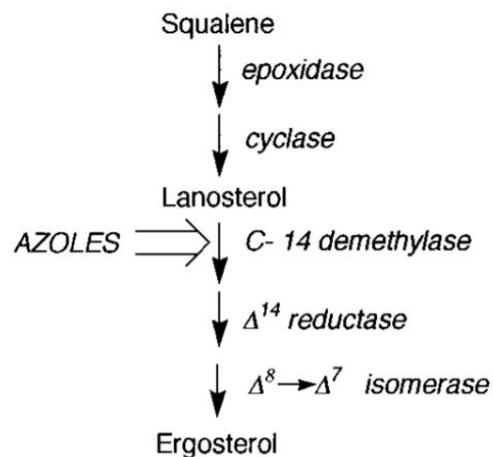


Fonte: PubChem, 2018

Fármacos da classe dos triazóis, como o fluconazol, atuam inibindo a síntese de ergosterol, importante constituinte da membrana celular de fungos. Ocorre inibição da enzima lanosterol-14-alfa-demetilase, responsável pela conversão de lanosterol a ergosterol, o que culmina em uma disfunção na fluidez e na estrutura da membrana celular (CHAROO *et al.*, 2014; DRUGDEX, 2018; EKIERT; KRZEK; TALIK, 2010). Funções atreladas à membrana, como transporte de nutrientes e síntese de quitina, acabam por ser debilitadas. O ergosterol também possui uma ação em fungos semelhante à de hormônios, onde quantidades traço são responsáveis pela

progressão do ciclo celular. Sendo assim, a inibição quase que total (>99%) de sua síntese também é responsável por uma ação fungistática, inibindo o crescimento e proliferação celular (GEORGOPAPADAKOU; WALSH, 1996; SHEEHAN; HITCHCOCK; SIBLEY, 1999; WHITE; MARR; BOWDEN, 1998).

Figura 2 - Mecanismo de ação dos fármacos da classe dos triazóis.



Fonte: GEORGOPAPADAKOU e WALSH, 1996

O fluconazol possui amplo espectro de atividade, sendo usado para tratar desde uma candidíase até uma meningite criptocócica. É especialmente útil no tratamento sistêmico profilático em pacientes transplantados e para combater infecções em pacientes imunossuprimidos (BOURICHIA *et al.*, 2012; CYR *et al.*, 1996; DENTINGER; SWENSON, 2009; HURTADO *et al.*, 2008). É efetivo contra espécies de *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Blastomyces*, *Coccidioides* e *Histoplasma* (VENSEL, 2002).

Esse fármaco possui características farmacocinéticas favoráveis para o manejo clínico de pacientes, como alta biodisponibilidade oral (>90%), alto tempo de meia vida (30h), absorção não dependente do pH gástrico ou da presença de alimentos, eliminação predominantemente renal e baixa ligação a proteínas plasmáticas, o que permite administração de uma única dose diária (CHAROO *et al.*, 2014; HURTADO *et al.*, 2008; SHEEHAN; HITCHCOCK; SIBLEY, 1999). Sua maior solubilidade em relação a outros antifúngicos da classe permite uma gama de apresentações

farmacêuticas mais diversificada (EKIERT; KRZEK; TALIK, 2010). Especialidades farmacêuticas de fluconazol disponíveis no mercado encontram-se nas formas de cápsulas, soluções intravenosas e pós para suspensão oral (DENTINGER; SWENSON, 2009; DRUGDEX, 2018).

A literatura consultada apresenta formulações magistrais líquidas de fluconazol com baixo prazo de validade, não ultrapassando duas semanas (FERREIRA; SOUZA, 2011; SOUZA, 2003). De acordo com a bula do fabricante de pó para suspensão oral de fluconazol (Diflucan®, 2006), o produto em suspensão é estável por 14 dias após sua reconstituição quando armazenado de 5 a 30 °C. Porém, um estudo demonstrou que o mesmo produto se manteve estável após reconstituição por 70 dias em temperatura ambiente quando armazenado tanto em frascos PET quanto em seringas âmbar, sem decréscimo significativo de sua concentração. O estudo também demonstrou que há formação de um produto de degradação não identificado após estresse térmico a 77 °C por 23h em condições extremas de pH (1,3 e 11,1) nos mesmos materiais de embalagem (DENTINGER; SWENSON, 2009).

Devido à ausência de formas farmacêuticas líquidas de uso oral no mercado nacional contendo fluconazol, na rotina da Farmácia Semi-Industrial do HCPA são produzidas derivações a partir de cápsulas contendo este fármaco. O conteúdo das cápsulas é disperso em água purificada, o que gera uma suspensão de uso oral que recebe o prazo de validade de 15 dias quando armazenada em geladeira (SOUZA, 2003). Tal prática se faz necessária para atendimento às prescrições destinadas a pacientes pediátricos e adultos com dificuldade de deglutição ou que utilizem de sondas para alimentação. Recentemente, com uma proposta de reduzir custos, o Hospital vem estudando a possibilidade de mudar o preparo de sua formulação de fluconazol, passando a utilizar o insumo farmacêutico ativo ao invés de cápsulas.

Até a presente data, há uma escassez de estudos descritos na literatura científica sobre a avaliação da estabilidade de preparações extemporâneas líquidas orais contendo fluconazol, bem como de desenvolvimento de formulações orais líquidas e sua estabilidade físico-química e microbiológica. No intuito de facilitar a administração deste fármaco, atendendo às necessidades dos pacientes internados na unidade hospitalar, o presente trabalho busca desenvolver e avaliar uma formulação oral líquida de fluconazol a ser produzida e utilizada pelo Hospital de

Clínicas de Porto Alegre, substituindo a derivação já produzida pela Farmácia Semi-Industrial.

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Desenvolver e avaliar a estabilidade físico-química e microbiológica de uma formulação oral líquida feita a partir de matéria-prima de fluconazol para uso na terapêutica de pacientes adultos e pediátricos internados em ambiente hospitalar.

2.2. Objetivos Específicos

Realizar estudo de desenvolvimento de uma suspensão oral de fluconazol para uso hospitalar.

Verificar adequabilidade de método analítico compendial para determinação quantitativa de fluconazol na suspensão desenvolvida.

Avaliar a estabilidade físico-química e microbiológica da formulação desenvolvida para propor o intervalo de tempo seguro para sua utilização.

3. Materiais e Métodos

3.1. Equipamentos

- Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Agilent, modelo LC 1200 series equipado com bomba quaternária (G1311A), autoinjeter (G1329A), detector de arranjo de diodo (1315B) e software para aquisição de dados e análise de resultados ChemStation, versão B03.02;
- Coluna cromatográfica Zorbax Eclipse Plus C18 Agilent® (150 mm x 4,6 mm x 5 µm);
- pHmetro HANNA Instruments, modelo pH21;
- Viscosímetro de Brookfield modelo RDVD-I+;

3.2. Reagentes

- Água purificada, Direct-Q3UV, Millipore®;
- Fosfato de potássio monobásico, Merck®;
- Metanol grau cromatográfico, LiChrosolv®;
- Acetonitrila grau cromatográfico, Vetec®;
- Substância Química de Trabalho de fluconazol, teor 100,9% (LAPPS-Faculdade de Farmácia/UFRGS)

3.3. Matérias-Primas

- Fluconazol matéria-prima, Delaware®, Teor 99,68%, L 1007/17;
- Carboximetilcelulose, Delaware®, L 1006/16;
- Xarope Simples, FSI/HCPA, L 002/18;
- Glicerina, Rioquímica®, L 1701655;
- Propilenoglicol, Rioquímica®, L 1512043.

3.4. Desenvolvimento de Formulação

Sete formulações de suspensão de fluconazol 50 mg/mL foram preparadas a um volume final de 100 mL e avaliadas quanto a viabilidade de preparo, pH, viscosidade e volume de sedimentação. A composição das formulações preparadas encontra-se na Tabela 1. Para todas as formulações, o fluconazol foi previamente triturado em gral e levigado com glicerina ou propilendoglicol, quando aplicável. O ativo foi incorporado com respectivo veículo, tendo seu volume total completado em cálice de vidro. Para completa homogeneização, as formulações foram agitadas manualmente por 1 minuto.

Tabela 1 - Composição das suspensões de fluconazol 50 mg/mL.

| | Fluconazol | Glicerina | Propilenoglicol | CMC* 1% sol aq. | Xarope Simples |
|---------------------|-------------------|------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|
| Formulação 1 | 5 g | - | - | - | qsp 100 mL |
| Formulação 2 | 5 g | 10 mL | - | - | qsp 100 mL |
| Formulação 3 | 5 g | - | 10 mL | - | qsp 100 mL |
| Formulação 4 | 5 g | 10 mL | - | qsp 100 mL | - |
| Formulação 5 | 5 g | 10 mL | - | 40 mL | qsp 100 mL |
| Formulação 6 | 5 g | 10 mL | - | 25 mL | qsp 100 mL |
| Formulação 7 | 5 g | 10 mL | - | 10 mL | qsp 100 mL |

*CMC = carboximetilcelulose

3.4.1. Análise de pH

O pH das formulações foi avaliado utilizando pHmetro HANNA Instruments, modelo pH21.

3.4.2. Análise de Viscosidade

Viscosímetro de Brookfield modelo RDVD-I+ com spindle nº 4 a 100 rpm foi utilizado para determinar a viscosidade das formulações. Medidas de toque e

viscosidade foram tomadas em 30 e 60 segundos de agitação, tendo a média dessas medidas como referência para avaliar a viscosidade das formulações.

3.4.3. Volume de Sedimentação

Cerca de 30 mL das formulações foram transferidos para provetas de vidro graduadas. A sedimentação das formulações foi avaliada no tempo zero e acompanhada em 1, 2, 24, 48, 72 e 168 horas, medindo o volume de sedimento formado e utilizando a seguinte fórmula:

$$V_s = \frac{V_t}{V_0}$$

Onde V_s = Volume de Sedimentação, V_t = Volume de sedimento em determinado tempo (mL) e V_0 = Volume total da suspensão no tempo zero (mL).

3.5. Adequabilidade de Método Analítico

Nesse estudo, utilizou-se metodologia compendial para doseamento de fluconazol em suspensão baseada na USP 41. O método possui especificação de teor de 90 a 110% do produto em relação à dose declarada, e as análises realizadas nesse trabalho foram avaliadas seguindo esse critério. Conforme a legislação vigente, metodologias compendias devem ter sua adequabilidade demonstrada nas condições laboratoriais por meio de estudo de validação parcial (BRASIL, 2017). Para tal, avaliou-se os seguintes parâmetros analíticos: linearidade, seletividade, precisão e exatidão.

3.5.1. Sistema Cromatográfico

Análises por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) foram realizadas utilizando acetonitrila e tampão fosfato de potássio monobásico 20 mM de pH 2,5 (80:20) em condição isocrática com vazão de 1,5 mL/min. A coluna utilizada foi uma

Zorbax Eclipse Plus C18 Agilent® (150 mm x 4,6 mm x 5 µm). As análises foram realizadas em temperatura ambiente, utilizando 50 µL de injeção de amostra e detector UV a 260 nm, assumindo uma pressão máxima de 400 bar. O tempo de análise utilizado foi de 6 minutos.

3.5.2. Seletividade

A seletividade do método foi avaliada comparando os cromatogramas obtidos para a Formulação 6, que contém todos os excipientes testados, e uma formulação placebo, livre de qualquer quantidade de fluconazol. As duas amostras foram diluídas 500 vezes para atingir concentração de trabalho e filtradas em filtro de membrana com diâmetro de poro de 0,45 µm (Merck Millipore®) previamente à análise.

3.5.3. Linearidade

Uma solução padrão estoque foi preparada contendo 1 mg/mL de fluconazol em diluente metanol:água (1:1). A partir desta, diluições foram realizadas com o mesmo diluente para obtenção de soluções padrão contendo 80, 90, 100, 110 e 120 µg/mL. Todas as soluções foram filtradas em filtro de membrana com diâmetro de poro de 0,45 µm (Merck Millipore®) e analisadas por CLAE, sendo cada concentração injetada três vezes. Curvas padrão foram geradas plotando média das áreas de pico obtidas versus concentração. A análise foi feita em triplicatas independentes. Análises de variância por ANOVA e de resíduos por teste de Cochran foram realizadas utilizando o programa Microsoft Office Excell 2016.

3.5.4. Precisão

Repetibilidade e precisão intermediária foram avaliadas. Uma solução padrão de fluconazol 1 mg/mL e seis soluções amostras de fluconazol matéria-prima 1 mg/mL foram preparadas em diluente metanol:água (1:1). As soluções foram diluídas a 100 µg/mL, concentração média da linearidade, com o mesmo diluente e filtradas em filtro de membrana com diâmetro de poro de 0,45 µm (Merck Millipore®) previamente à análise cromatográfica. A repetibilidade foi determinada avaliando o desvio padrão

relativo (DPR) obtido entre as seis amostras preparadas sob as mesmas condições de análise, enquanto que a precisão intermediária foi determinada avaliando o DPR obtido entre doze amostras preparadas em dois dias distintos por analistas diferentes.

3.5.5. Exatidão

Solução padrão de fluconazol 1 mg/mL e solução amostra de fluconazol matéria-prima 1 mg/mL foram preparadas em diluente metanol:água (1:1). Alíquotas de 0,8 mL de solução amostra foram transferidas para balões volumétricos de 10,00 mL contendo 0,2, 0,3 e 0,4 mL de solução padrão. O volume dos balões foi completado com diluente, gerando concentrações finais de fluconazol de 100, 110 e 120 µg/mL, e as soluções foram filtradas em filtro de membrana com diâmetro de poro de 0,45 µm (Merck Millipore®) previamente à análise. As diluições foram feitas em triplicata e a exatidão do método foi avaliada mediante a recuperação de padrão encontrada em cada nível de concentração.

3.6. Estudo de Estabilidade

As formulações que apresentaram aparência final livre de grumos, resultados de pH entre 5,5 e 7,5, viscosidade abaixo de 1000 cp e volume de sedimentação acima de 0,90 em 72h foram produzidas em escala semi-industrial para o estudo de estabilidade. Foram preparados 1,5 L de cada formulação da mesma forma que a descrita anteriormente (item 3.4. Desenvolvimento de Formulação), contendo concentração final de fluconazol de 50 mg/mL. O preparo foi realizado em capela de fluxo laminar e com materiais previamente higienizados com etanol 70%. Uma amostra das formulações foi tomada para realizar ensaio microbiológico. As formulações foram envasadas em frascos PET âmbar contendo 30 mL de suspensão. Cinco frascos de cada formulação foram armazenados em temperatura ambiente, cinco frascos em geladeira (2 a 8 °C) e cinco em estufa (40 °C), sendo três frascos destinados para doseamento por CLAE, um frasco para avaliação de pH e análise macroscópica, e um frasco para ensaio microbiológico.

3.6.1. Doseamento

O teor das formulações foi analisado após 0, 7 e 14 dias de armazenamento nas condições cromatográficas descritas. Cada frasco teve 1 mL aliquoteado e diluído 500 vezes com diluente metanol:água (1:1). As soluções foram filtradas em filtro de membrana com diâmetro de poro de 0,45 µm (Merck Millipore®) e analisadas por CLAE conforme metodologia descrita no item 3.5.1. (Sistema Cromatográfico). Análise de variância por ANOVA e teste t de Student foram realizados utilizando o programa Microsoft Office Excell 2016.

3.6.2. Análise de pH

O pH das formulações foi analisado após 0, 7 e 14 dias de armazenamento nas condições descritas. A análise foi feita em triplicata com pHmetro HANNA Instruments, modelo pH21.

3.6.3. Análise Macroscópica

O conteúdo dos frascos destinados à análise de pH foi vertido para um béquer de vidro e analisado em fundo escuro após 0, 7 e 14 dias de armazenamento nas condições descritas. Observou-se a presença ou ausência de alterações na cor, aparência e odor das formulações.

3.6.4. Ensaio Microbiológico

Logo após a produção das formulações na FSI e após 21 dias de armazenamento, as amostras destinadas para ensaio microbiológico foram encaminhadas para empresa terceirizada (GRAM - Laboratório de Análises Microbiológicas Ltda). Pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. foi realizada pelo Método Cultural descrito em *Bacteriological Analytical Manual* (2001) - *Food and Drug Administration*. Contagem total de bactérias aeróbicas e contagem total de bolores e leveduras foram realizadas pelo método Pour Plate descrito na Farmacopéia Brasileira, 5ª Edição.

4. Resultados e Discussão

4.1. Desenvolvimento de Formulação

Utilizando insumos disponíveis na Farmácia Semi-Industrial do HCPA e com base na literatura consultada, sete formulações foram produzidas contendo diferentes excipientes e concentrações dos mesmos. Uma avaliação inicial durante a própria manipulação já revelou algumas informações relevantes quanto a viabilidade de cada formulação.

A Formulação 1, que consistiu apenas do fluconazol incorporado em xarope simples, apresentou formação de pequenos grumos no seu aspecto final, o que foi contornado na Formulação 2 com o uso de glicerina para levigar o fármaco antes da incorporação. Ao utilizar propilenoglicol no lugar da glicerina na Formulação 3, a levigação demonstrou-se de difícil execução e pouco eficiente, formando aglomerados antes mesmo de realizar a incorporação. Decidiu-se por descartar a Formulação 3.

A substituição de xarope simples por uma solução aquosa de carboximetilcelulose (CMC) 1% como veículo (Formulação 4) prejudicou a incorporação do fármaco devido a uma elevada viscosidade do excipiente e levou à incorporação de ar na formulação. Como as formulações que consistiram apenas de xarope simples como veículo resultaram em uma viscosidade aparentemente menor, o que pode ser constatado no item 4.1.1 (pH e Viscosidade), testou-se diferentes concentrações de solução de CMC 1% (40%, 25% e 10% para Formulações 5, 6 e 7, respectivamente). Todas elas foram de fácil preparo e com bom aspecto final, livre de grumos ou bolhas de ar.

4.1.1. pH e Viscosidade

Os resultados obtidos para o pH e para a viscosidade das formulações encontram-se na Tabela 2. A Formulação 2 apresentou o menor valor de pH de todos, com 5,78, enquanto que o maior registrado foi de 6,82 para a Formulação 4.

A análise da viscosidade indicou que formulações contendo apenas xarope simples como veículo foram as mais fluidas, apresentado baixos valores de

viscosidade e torque. Esses valores apresentam tendência de aumento conforme a quantidade de CMC presente na formulação.

Apesar de viscosidade não ser um parâmetro que possua uma especificação determinada por um guia, legislação ou compêndio, se faz necessário buscar um valor que atenda às necessidades da formulação e permita a padronização do processo de produção da suspensão. É interessante que suspensões possuam uma viscosidade adequada para manter suas partículas sólidas dispersas, garantindo homogeneidade da formulação e segurança da dose administrada. Por outro lado, formulações muito viscosas não são desejadas quando se trata da administração do medicamento, pois a redispersão torna-se difícil e o produto pode ser parcialmente retido em utensílios como copos medidores, seringas e sondas. Quando necessário, o acréscimo da viscosidade de uma formulação não deve ser muito extenso para evitar esses tipos de situações (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2011).

Tabela 2 - Valores médios de pH, viscosidade e torque obtidos para as diferentes formulações preparadas contendo fluconazol.

| Formulação | pH (média±dp) | Viscosidade (cP) | Torque (%) |
|------------|---------------|------------------|------------|
| 1 | 6,24 (±0,04) | 259 | 13,0 |
| 2 | 5,78 (±0,02) | 356 | 13,9 |
| 4 | 6,82 (±0,07) | 1437 | 71,8 |
| 5 | 6,36 (±0,03) | 1024 | 51,2 |
| 6 | 6,18 (±0,03) | 906 | 45,5 |
| 7 | 6,30 (±0,13) | 422 | 19,3 |

4.1.2. Volume de Sedimentação

Os valores de volume de sedimentação calculados estão dispostos na Tabela 3. As Formulações 1 e 2, tendo apenas xarope simples como veículo, apresentaram os maiores volumes de sedimento e maiores velocidades de sedimentação – em 24h já possuíam uma quantidade considerável de sedimento formado. A inclusão de CMC nas formulações retardou esse processo. A Formulação 4 continha apenas CMC

como veículo e começou a sedimentar após 2h em repouso, mas a uma taxa bem menor, visto que em 24h o sedimento formado foi expressivamente menor quando comparado com as formulações anteriores. A utilização de uma mistura de xarope simples e CMC como veículo se mostrou mais promissora nas Formulações 5, 6 e 7 (40%, 25% e 10% de solução aquosa CMC 1%, respectivamente), tendo sedimentações mínimas ao longo de 7 dias em repouso. O volume de sedimentação obtido aumentou quanto maior a proporção de CMC na formulação.

Tabela 3 - Volume de sedimentação calculado através dos volumes de sedimento formados em cada formulação ao longo de 7 dias de acompanhamento.

| Volume de Sedimentação | | | | | | |
|------------------------|------|------|------|------|------|------|
| Formulação | | | | | | |
| Tempo | 1 | 2 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| 0h | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| 1h | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| 2h | 1,00 | 1,00 | 0,98 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| 24h | 0,29 | 0,78 | 0,94 | 0,97 | 0,97 | 0,97 |
| 48h | 0,29 | 0,66 | 0,89 | 0,97 | 0,95 | 0,94 |
| 72h | 0,29 | 0,58 | 0,84 | 0,97 | 0,94 | 0,91 |
| 168h | 0,29 | 0,50 | 0,60 | 0,94 | 0,87 | 0,85 |

A Lei de Stokes dita que a taxa de sedimentação de uma partícula é diretamente proporcional ao seu diâmetro e inversamente proporcional à viscosidade do meio (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2011). Espera-se que o tamanho de partículas das formulações sejam uniformes entre si devido à trituração prévia à manipulação da matéria prima utilizada, tendo, portanto, a viscosidade do meio como a variável que afeta a sedimentação. Os resultados obtidos da viscosidade corroboram com os de volume de sedimentação, visto que estes tendem a ser maiores quanto maior a viscosidade das formulações.

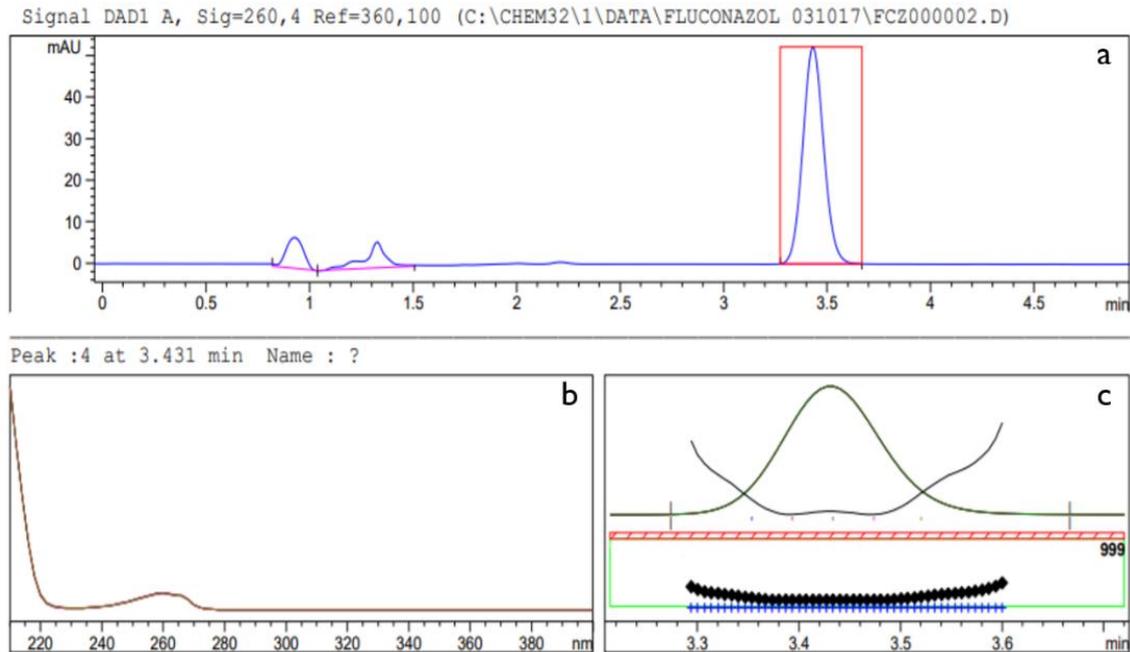
4.2. Adequabilidade de Método Analítico

4.2.1. Sistema Cromatográfico

Um cromatograma obtido para padrão de fluconazol 100 µg/mL preparado em metanol e água (1:1) pode ser observado na Figura 3a. O pico de fluconazol eluiu em um tempo de retenção de 3,491 min, apresentou resolução (R) de 14,16 em relação ao tempo morto, simetria (T) de 0,91, nº de pratos teóricos (N) de 5731 e pureza de pico adequada (Figura 3b).

Um sistema cromatográfico utilizado, seja para fins de validações ou análises de amostras, sempre deve ser avaliado quanto à capacidade de fornecer dados de qualidade aceitável. Os valores de resolução, fator de cauda e simetria são tipicamente utilizados para realizar essa avaliação (RIBANI *et al*, 2004). Guias recomendam que, para que o sistema seja considerado apto, os picos de interesse devem possuir R superior a 2,0, T inferior a 2,0 e N superior a 2000 (US-FDA, 1994). Os resultados obtidos para as análises cromatográficas realizadas com padrão de fluconazol demonstram a adequabilidade do sistema utilizado neste trabalho.

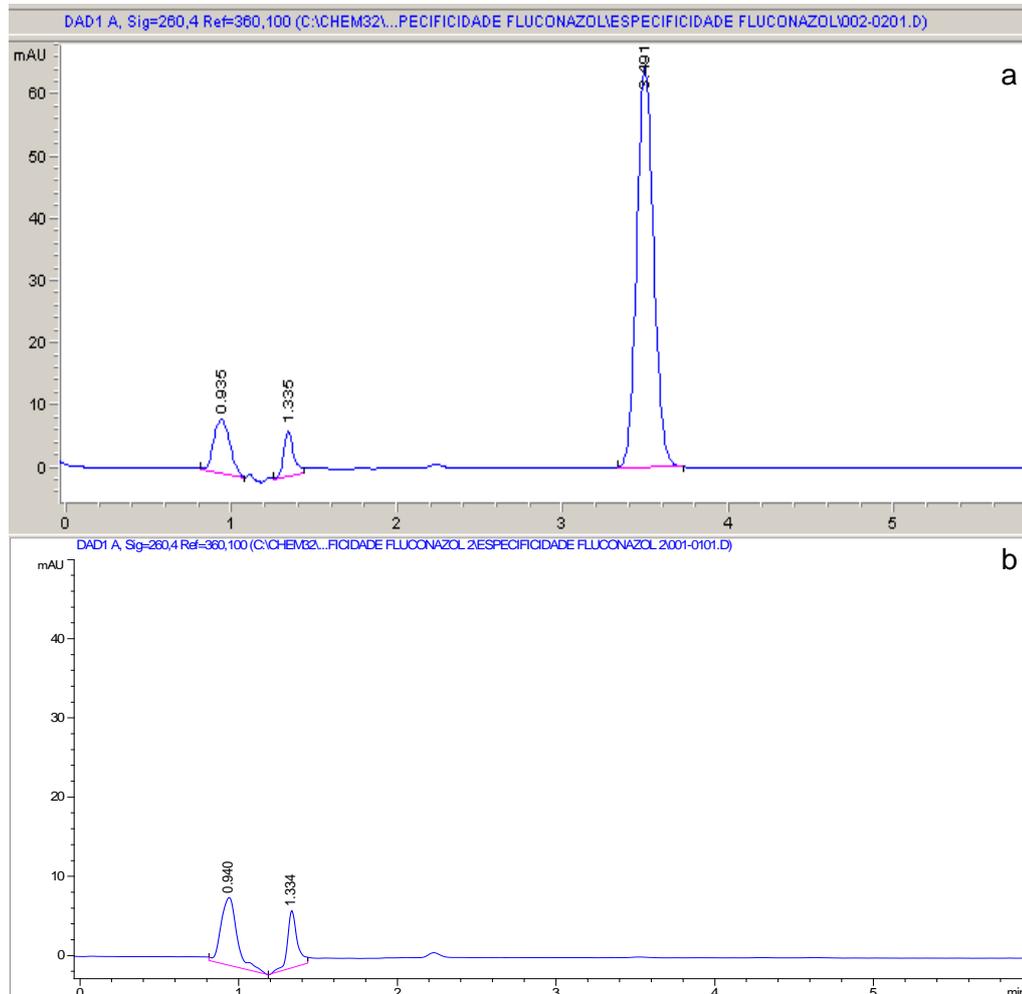
Figura 3 - (a) Cromatograma obtido para padrão de fluconazol 100 µg/mL nas condições cromatográficas utilizadas. (b) Espectro de absorção do padrão de fluconazol em 260 nm. (c) Pureza de pico obtida para o padrão de fluconazol.



4.2.2. Seletividade

Para garantir que a detecção de fluconazol pelo método aplicado não sofresse influência de nenhum excipiente, a Formulação 6 foi utilizada para a verificação da seletividade do método, tendo em vista que sua composição continha todos os excipientes avaliados (Figura 4a). Uma formulação placebo foi preparada para avaliação dos possíveis interferentes na análise cromatográfica (Figura 4b). No cromatograma da formulação placebo, não se observou nenhum pico eluindo no tempo de retenção do fluconazol, demonstrando a ausência de interferência da matriz.

Figura 4 - Cromatogramas obtidos para a Formulação 6 (a) e formulação placebo (b). Fase móvel composta por acetonitrila e tampão fosfato de potássio monobásico 20 mM pH 2,5 (80:20) em condição isocrática com vazão de 1,5 mL/min, injeção de 50 µL, detector UV a 260 nm, coluna Zorbax Eclipse Plus C18 Agilent® (150 mm x 4,6 mm x 5 µm), análises realizadas em temperatura ambiente. Picos em 0,935 min e 1,335 min identificados como diluente, pico em 3,491 min identificado como fluconazol.



4.2.3. Linearidade

Para fins de quantificação, se faz necessário demonstrar linearidade do método analítico em uma faixa de 80 a 120% da especificação de interesse de acordo com a RDC 166/2017. A faixa de trabalho utilizada nesse estudo cumpriu esse requisito, utilizando soluções padrão de fluconazol com concentrações que variaram de 80 a 120 µg/mL demonstrados na Figura 5.

A regressão linear obtida através do método dos mínimos quadrados apresentou um coeficiente angular de 4,2113, significativamente diferente de zero (P

< 0,05), demonstrando uma relação entre aumento de concentração do analito com aumento de resposta analítica obtida. A regressão linear se mostrou significativa pela análise de ANOVA, com $F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado}}$ (4609,0 e $5,7 \cdot 10^{-18}$, respectivamente). A análise de resíduos também demonstra a adequabilidade da regressão linear aplicada por demonstrar homocedasticidade dos erros de medida. Através do gráfico de resíduos padrão (Figura 6), podemos notar ausência de pontos *outliers* (fora de uma faixa de $\pm 2,0$) e de tendência nas suas variâncias, demonstrando aleatoriedade em sua distribuição, o que também fica evidenciado por teste de Cochran onde $C_{\text{calculado}} < C_{\text{tabelado}}$ (0,624 e 0,684, respectivamente).

O coeficiente de determinação (r^2) foi de 0,9972, portanto, podemos dizer que 99,72% da variação da resposta analítica obtida se deve pelo acréscimo de concentração do analito. Vale ressaltar que o valor mínimo de r^2 exigido pela legislação vigente é de 0,990.

Figura 5 - Regressão linear obtida para soluções padrão de fluconazol pelo método cromatográfico utilizado.

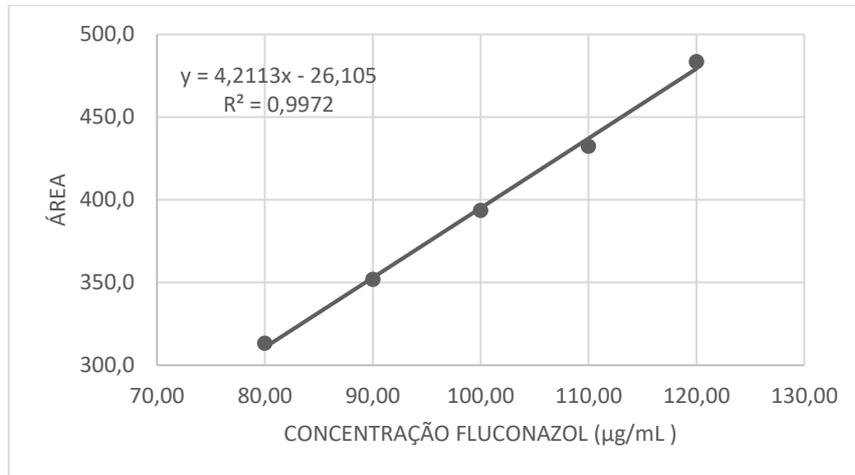
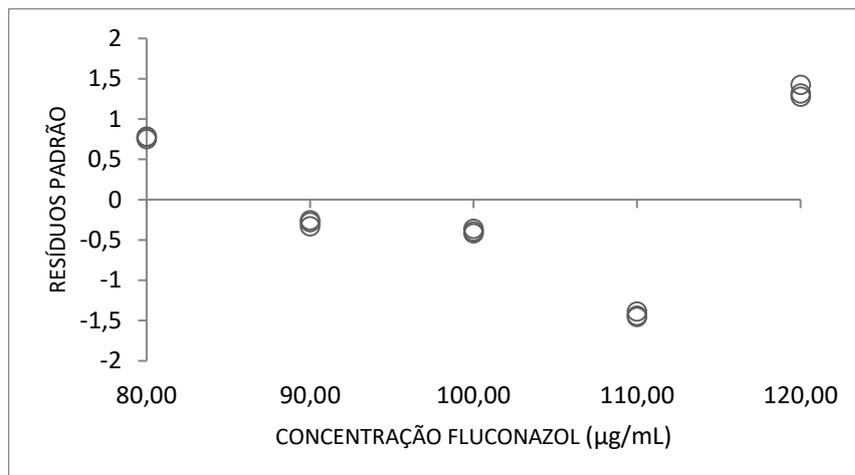


Figura 6 - Dispersão dos resíduos padrão da linearidade do método cromatográfico.



4.2.4. Precisão

A Tabela 4 demonstra os resultados de teor obtidos para as amostras de fluconazol referentes a repetibilidade e precisão intermediária do método analítico. De acordo com a RDC 166/2017, a repetibilidade consiste em avaliar réplicas de amostra sob as mesmas condições de operação pelo mesmo analista e utilizando a mesma instrumentação em uma única análise. Essa avaliação se faz através do desvio padrão

relativo dos teores obtidos entre as réplicas utilizadas. Já para a precisão intermediária, se comparam os resultados de duas análises realizadas nas mesmas condições descritas, porém em dias distintos e por analistas diferentes. Para o presente estudo, tanto a repetibilidade quanto a precisão intermediária apresentaram DPR inferior a 2,0%, indicando precisão adequada do método.

Tabela 4 - Resultados obtidos para amostras de fluconazol utilizadas para avaliação da precisão do método analítico.

| Repetibilidade e Precisão Intermediária | | |
|---|----------|-------|
| Amostra | Teor (%) | |
| | Dia 1 | Dia 2 |
| 1 | 103,9 | 103,4 |
| 2 | 103,8 | 101,8 |
| 3 | 103,9 | 101,9 |
| 4 | 104,1 | 99,1 |
| 5 | 102,6 | 101,6 |
| 6 | 104,0 | 101,7 |
| Média intradia (%) | 103,7 | 101,6 |
| DPR intradia (%) | 0,54 | 1,37 |
| Média interdia (%) | 102,7 | |
| DPR interdia (%) | 1,46 | |

4.2.5. Exatidão

A recuperação de padrão de fluconazol adicionado em três níveis de concentração à amostra foi avaliada para comprovar exatidão do método. Na Tabela 4 encontram-se os valores obtidos de recuperação, tendo como média 100,87% entre os três níveis, o que demonstra a exatidão do método utilizado.

Tabela 5 - Valores das recuperações obtidas em amostras acrescidas de padrão de fluconazol para avaliação da exatidão do método analítico.

| Exatidão | | |
|-----------|-------------------------------------|-----------------------|
| Nível (%) | Padrão Adicionado (μg) | Recuperação Média (%) |
| 100 | 200 | 99,77 |
| 110 | 300 | 102,64 |
| 120 | 400 | 100,20 |

4.3. Estudo de Estabilidade

Para dar início ao estudo de estabilidade, os critérios citados no item 3.6 (Estudo de Estabilidade) foram utilizados para selecionar as formulações com melhor desempenho até então. Buscou-se um pH próximo à neutralidade por ser mais adequado para a administração oral e pelo fato de que produtos de degradação do fluconazol foram detectados anteriormente em valores extremos de pH (DENTINGER; SWENSON, 2009). Um elevado valor de viscosidade não era desejado devido à prática do Hospital de Clínicas em fazer uso de seringas para administração de medicamento por sondas, o que se tornaria difícil com uma formulação de alta viscosidade. Outro requisito que a formulação buscou cumprir é manter suas partículas em suspensão pelo maior tempo possível, o que foi detectado por valores de volume de sedimentação elevados. Isso garante que as partículas não tendam a compactar, tornando mais fácil o processo de redispersão e trazendo mais segurança quanto à dose administrada ao paciente.

Com base nos resultados obtidos durante o estudo de formulação, as Formulações 6 e 7 atenderam os critérios estabelecidos e foram selecionadas para dar continuidade ao trabalho.

4.3.1. Doseamento

A ANVISA traz na Resolução nº 1 de 29 de julho de 2005 o Guia para Estudos de Estabilidade de produtos farmacêuticos a serem realizados no âmbito nacional para poder prever, determinar ou acompanhar o seu prazo de validade. Nela, ficam estabelecidas as definições dos diferentes estudos a serem realizados, bem como as

condições em que cada tipo de produto deve ser submetido. Também estabelece os ensaios a serem realizados e os critérios para aprovação de registro e prazo de validade.

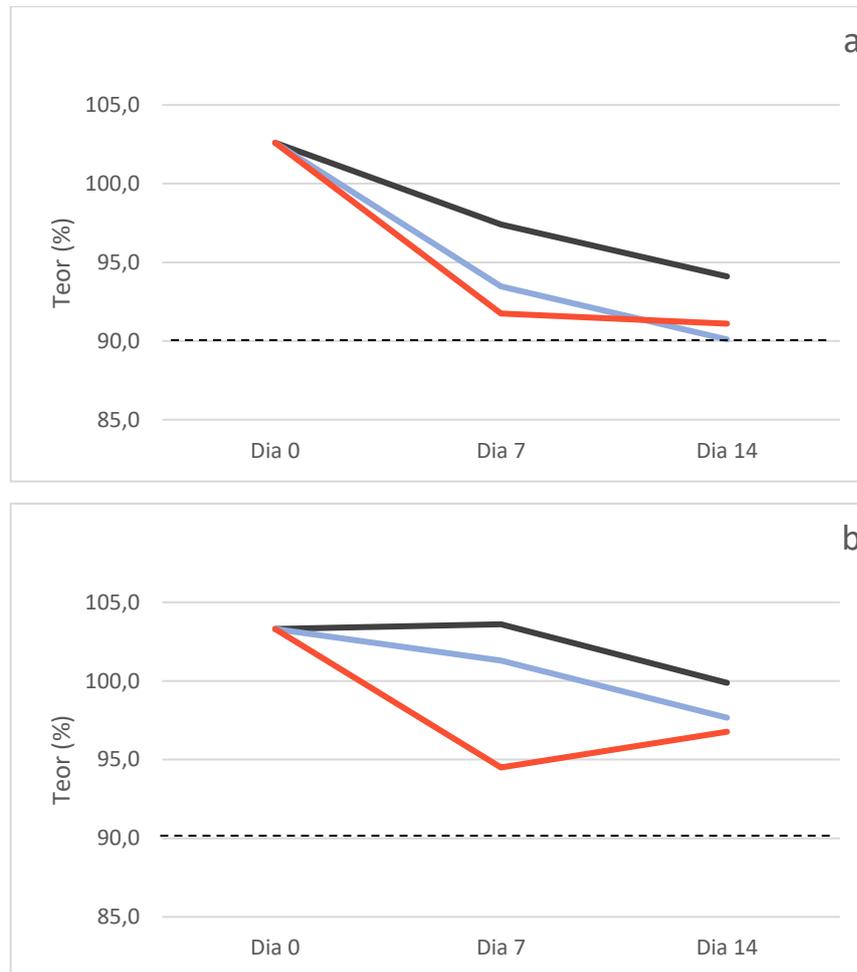
Os resultados desse estudo quanto aos teores das Formulações 6 e 7 tomados por 14 dias, sob diferentes condições de armazenamento, se encontram na Tabela 6 (média e desvio padrão relativo de três frascos utilizados em cada condição). O perfil dos teores pode ser analisado pela Figura 7. Nota-se uma redução de 8,5%, 12,5% e 11,5% no teor da Formulação 6 ao final de 14 dias quando armazenada em temperatura ambiente, sob refrigeração e em estufa, respectivamente. Já na Formulação 7, a redução no teor de 3,4% para armazenamento em temperatura ambiente, 5,6% sob refrigeração e 6,5% para armazenamento em estufa.

De modo geral, ambas as formulações permaneceram acima de 90% do teor declarado durante o estudo de estabilidade. Com 14 dias, a Formulação 6 possui quedas de teor equivalentes quando armazenada sob refrigeração e em estufa, visto que não há diferença estatisticamente significativa entre essas duas condições ($P > 0,05$). Já quando armazenada em temperatura ambiente, a queda de teor é menor, indicando maior estabilidade. Para a Formulação 7 armazenada em estufa, uma elevação no seu teor pode ser percebida entre os dias 7 e 14. Isso pode estar relacionado com a perda de água por evaporação, acarretando em concentração da formulação. Analisando os valores de DPR obtidos, percebe-se uma maior variação nos resultados da Formulação 7, demonstrando uma dificuldade em obter alíquotas representativas dessa formulação, o que pode refletir em sub ou sobredosagem ao paciente.

Tabela 6 - Valores obtidos das análises quantitativas das formulações armazenadas em temperatura ambiente, sob refrigeração (2 - 8 °C) e em estufa (40°) ao longo do estudo de estabilidade.

| | Dia | Temp. Ambiente | | Refrigeração | | Temp. de Estufa | |
|--------------|-----|----------------|---------|--------------|---------|-----------------|---------|
| | | Teor (%) | DPR (%) | Teor (%) | DPR (%) | Teor (%) | DPR (%) |
| Formulação 6 | 0 | 102,6 | 1,9 | 102,6 | 1,9 | 102,6 | 1,9 |
| | 7 | 97,4 | 3,8 | 93,5 | 0,8 | 91,7 | 3,7 |
| | 14 | 94,1 | 2,8 | 90,1 | 3,1 | 91,1 | 1,7 |
| Formulação 7 | 0 | 103,3 | 5,9 | 103,3 | 5,9 | 103,3 | 5,9 |
| | 7 | 103,6 | 2,1 | 101,3 | 1,0 | 94,5 | 4,8 |
| | 14 | 99,9 | 6,0 | 97,7 | 8,4 | 96,8 | 5,4 |

Figura 7 - Representação gráfica dos teores obtidos no estudo de estabilidade para as Formulações 6 (a) e 7 (b). Em preto, frascos armazenados em temperatura ambiente. Em azul, frascos armazenados sob refrigeração (2 - 8 °C). Em vermelho, frascos armazenados em estufa (40 °C)



4.3.2. Análise de pH

O pH das formulações também foi avaliado juntamente com o teor. A Tabela 7 demonstra os valores do pH ao longo do tempo. Apesar de ambas as formulações possuírem diferenças em suas composições e terem sido submetidas a três temperaturas de armazenamento, os valores de pH registrados variaram pouco em todas as amostras, mantendo-se estáveis ao longo do estudo. As duas formulações apresentaram o mesmo perfil em todos os casos, com uma pequena queda de pH ao 7º dia, voltando a valores próximos aos originais no 14º dia.

Tabela 7 - Valores obtidos para as análises de pH das Formulações 6 e 7 armazenadas em temperatura ambiente, sob refrigeração (2 - 8 °C) e em estufa (40 °C) durante o estudo de estabilidade.

| | pH | | | |
|--------------|-----|----------------|--------------|-----------------|
| | Dia | Temp. Ambiente | Refrigeração | Temp. de Estufa |
| Formulação 6 | 0 | 5,42 | 5,47 | 5,45 |
| | 7 | 4,55 | 4,57 | 4,34 |
| | 14 | 5,42 | 5,70 | 5,30 |
| Formulação 7 | 0 | 5,45 | 5,47 | 5,42 |
| | 7 | 4,58 | 4,54 | 4,28 |
| | 14 | 5,66 | 5,84 | 5,42 |

4.3.3. Análise Macroscópica

Durante o tempo de estudo, a Formulação 6 não apresentou nenhuma mudança nas suas propriedades organolépticas no que diz respeito a aspecto, cor e odor. Suas características tomadas no início do estudo de coloração branca levemente amarelada, odor característico e ausência de grumos se mantiveram as mesmas ao final dos 14 dias. Já a Formulação 7 possuía as mesmas características iniciais, mas apresentou um leve escurecimento em sua coloração e separação de fases em todas as condições de armazenamento com 14 dias de estabilidade. O aspecto das formulações ao longo do estudo pode ser visualizado nas Figuras 8 e 9, e a separação de fases na Figura 10. Como a única diferença entre as formulações foi a proporção de CMC, acredita-se que a quantidade utilizada na Formulação 7 (10%) tenha sido insuficiente para manter o fluconazol em suspensão, ocasionando na separação de fases, tendo em vista a baixa solubilidade do fármaco em água.

Figura 8 - Aspecto macroscópico da Formulação 6 armazenada nas diferentes condições de temperatura após cada tempo de análise.

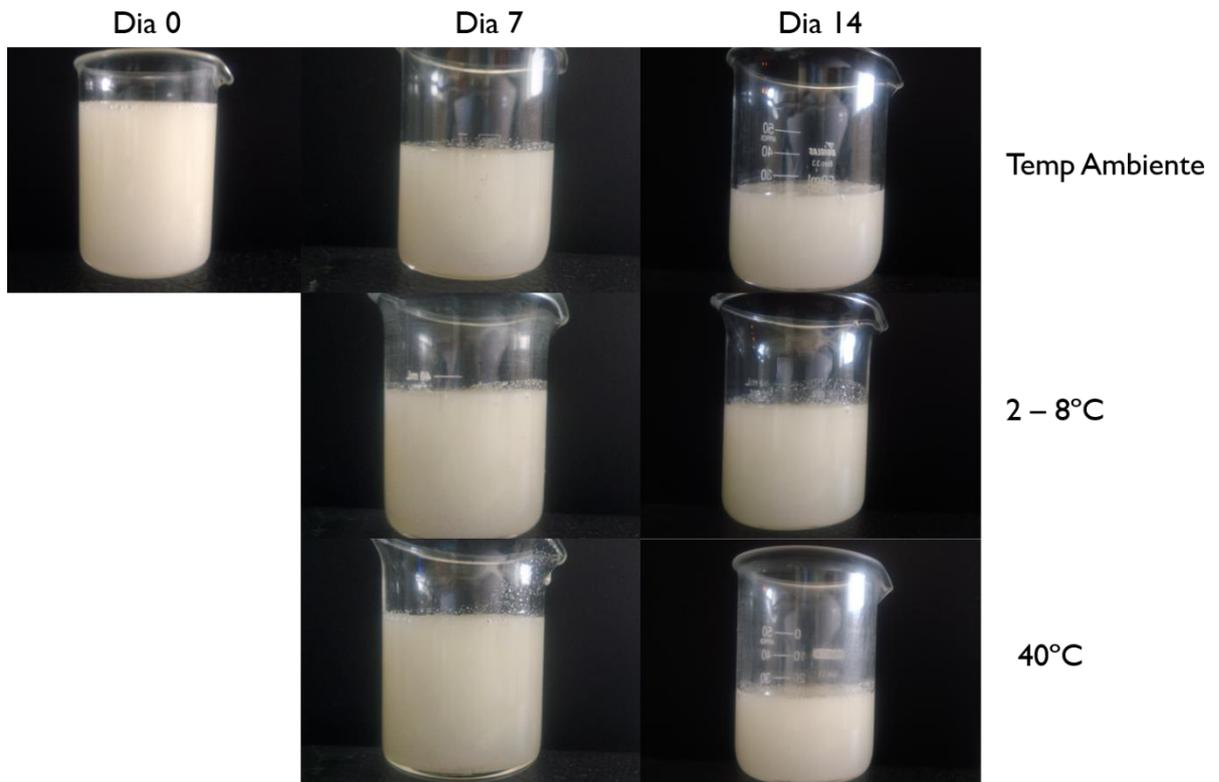


Figura 9 - Aspecto macroscópico da Formulação 7 armazenada nas diferentes condições de temperatura após cada tempo de análise.

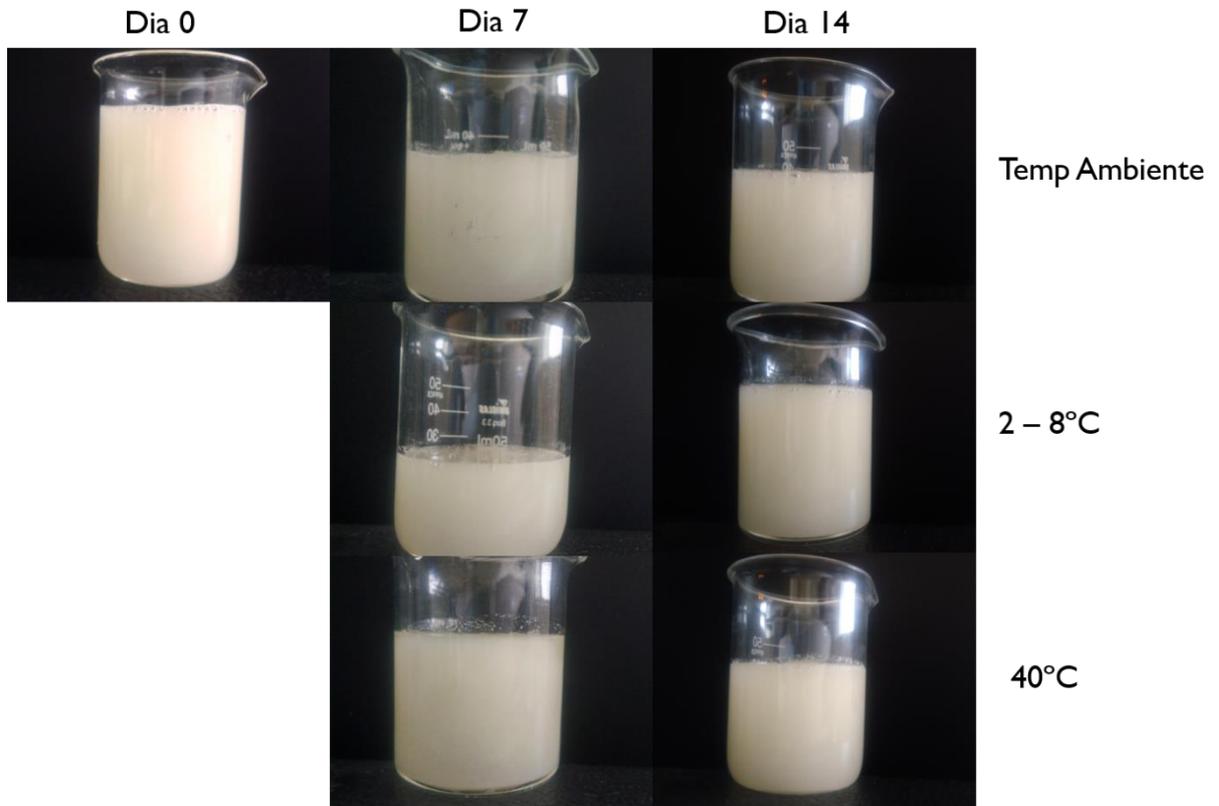
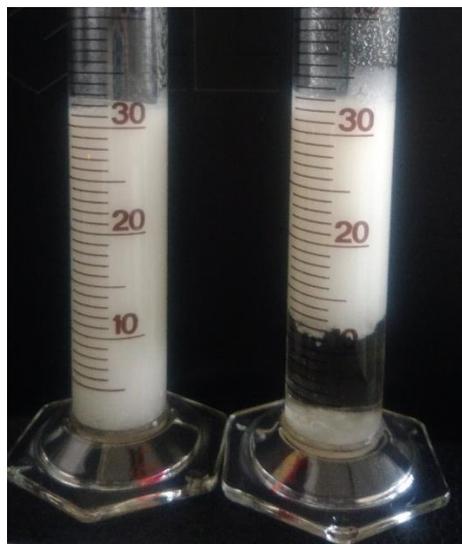


Figura 10 - À direita, separação de fases observada após 14 dias de estabilidade na Formulação 7. À esquerda, Formulação 6 com o mesmo tempo de estabilidade para fins comparativos.



4.3.4. Ensaio Microbiológico

Os resultados reportados nos laudos da empresa GRAM - Laboratório de Análises Microbiológicas Ltda para os ensaios microbiológicos estão dispostos da Tabela 7. Uma primeira análise foi encaminhada ao laboratório assim que a manipulação das formulações foi realizada na Farmácia Semi-Industrial para garantir que as condições de produção foram adequadas em termos microbiológicos. Verifica-se que a manipulação se deu em ótimas condições de higiene e sanitização devido à ausência de patógenos utilizados no controle e de baixas contagens de bactérias aeróbicas, bolores e leveduras totais.

A avaliação de estabilidade microbiológica também é usada para determinar um intervalo seguro de utilização de algum produto, demonstrando as condições de armazenamento e a capacidade do produto em evitar efeitos nocivos resultantes de contaminação microbiana (GOBETTI, 2017). Ambas formulações possuem xarope simples em sua composição, que por si só já garante uma estabilidade microbiológica por gerar um meio extremamente saturado e com baixa disponibilidade de água livre, que inibe a proliferação microbiana. Além disso, o xarope simples utilizado pela Farmácia Semi-Industrial possui uma pequena quantidade de metilparabeno (0,2%). Percebe-se que as duas formulações foram capazes de se manter com um mínimo de proliferação microbiana após 21 dias de suas produções. Houve apenas um pequeno aumento na contagem total de bolores e leveduras na Formulação 7 quando armazenada em estufa, mas ainda assim ficando abaixo da especificação exigida e, portanto, adequada para uso em termos microbiológicos.

Tabela 8 - Determinação de bactérias aeróbicas, bolores, leveduras e micro-organismos patógenos nas Formulações 6 e 7 no momento do preparo e ao final de 21 dias de armazenamento sob diferentes condições de temperatura.

| Determinação | Formulação 6 | | | | Formulação 7 | | | | Especificação |
|---------------------------------------|--------------|----------------|--------------|---------------|--------------|----------------|--------------|-----------|---------------|
| | 0 dia | 21 dias | | | 0 dia | 21 dias | | | |
| | | Temp. Ambiente | Refrigeração | Estufa | | Temp. Ambiente | Refrigeração | Estufa | |
| <i>P. aeruginosa</i> | | | | Ausência/mL | | | | | Ausência/mL |
| <i>S. aureus</i> | | | | Ausência/mL | | | | | Ausência/mL |
| <i>E coli</i> | | | | Ausência/mL | | | | | Ausência/mL |
| <i>Salmonella sp.</i> | | | | Ausência/10mL | | | | | Ausência/10mL |
| Contagem total de bactérias aeróbicas | | | | < 10 UFC/mL | | | | | 200 UFC/mL |
| Contagem total de bolores e leveduras | | | | < 10 UFC/mL | | | | 10 UFC/mL | 20 UFC/mL |

5. Conclusão

Com o presente estudo, foi possível desenvolver e caracterizar uma formulação líquida para uso oral contendo fluconazol própria para uso hospitalar. Pôde-se demonstrar também a adequabilidade do método analítico compendial para análise quantitativa da formulação desenvolvida.

Os resultados da Formulação 7 durante o estudo de estabilidade demonstram que sua utilização na rotina do Hospital de Clínicas não é recomendável. A quantidade de CMC utilizada mostrou-se insuficiente para manter as partículas dispersas por mais de uma semana, o que resultaria em um espaço de tempo para uso menor em relação à derivação de cápsulas de fluconazol utilizada até então. Em contrapartida, o conjunto de resultados relacionados à Formulação 6 sugere sua incorporação no portfólio de produtos da Farmácia Semi-Industrial, com um prazo de validade recomendado de 14 dias armazenada em temperatura ambiente.

O desenvolvimento deste trabalho representa um aporte significativo de informações e tomada de decisões ao setor de produção semi-industrial do hospital, que poderá produzir uma suspensão de uso oral contendo fluconazol a partir do insumo farmacêutico ativo, dispensando o uso de cápsulas para realizar derivação farmacêutica. Além disso, a demonstração de estabilidade da Formulação 6 em temperatura ambiente livra o hospital de armazenamento refrigerado, que possui limitações na disponibilidade de espaço físico.

6. Referências

ABDEL-MOETY, E. M. *et al.* Chromatographic determination of clotrimazole, ketoconazole and fluconazole in pharmaceutical formulations. **II Farmaco**, 2002. 931-938.

ALLEN, Loyd V.; POPOVICH, Nicholas G.; ANSEL, Howard C.. **Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems**. 9. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2011.

AYERS, M. V. **Avaliação de Estabilidade de Derivação Farmacêutica Hospitalar de Vigabatrina**. 2016. 93 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

BAUMER, J. D. *et al.* AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA. **Farmácia & Ciência**, 2011. 10-22.

BOURICHIA, H. *et al.* Solid-state characterization and impurities determination of fluconazol generic products marketed in Morocco. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, 2012. 412-421.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopéia Brasileira**. 5. ed. Brasília: Anvisa, 2010. 1 v.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopéia Brasileira**. 5. ed. Brasília: Anvisa, 2010. 2 v.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada nº 67, de 08 de outubro de 2007. Dispõe sobre as boas práticas de manipulação de preparações magistrais e oficinais para uso humano em farmácias. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 08 out. 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada nº 166, de 25 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 02 jun. 2017

BRASIL. Resolução RE nº 1, de 29 de julho de 2005. Determina a publicação do "Guia para a realização dos estudos de estabilidade". **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2005.

CASTRO, G. *et al.* Time-of-flight mass spectrometry assessment of fluconazole and climbazole UV and UV/H₂O₂ degradability: Kinetics study and transformation products elucidation. **Water Research**, 2015. 681-690.

CHAROO, N. *et al.* Biowaiver Monograph for Immediate-Release Solid Oral Dosage. **JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES**, 2014. 3843-3858.

CYR, T. D. *et al.* Spectral characterization of fluconazole. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 1996. 247-255.

DENTINGER, P. J.; SWENSON, C. F. Stability of Reconstituted Fluconazole Oral Suspension in Plastic. **The Annals of Pharmacotherapy**, 2009. 285-289.

Diflucan (fluconazole). New York, NY: Pfizer Roerig, Inc, June 2006. Bula de medicamento.

DRUGDEX® System. **MICROMEDEX®** Truven Health Analytics. The Healthcare Business of Thomson Reuters. Disponível em: <http://www.micromedexsolutions.com/home/dispatch>. Acesso em: 20.04.2018

EKIERT, R. J.; KRZEK, J.; TALIK, P. Chromatographic and electrophoretic techniques used in the analysis of triazole antifungal agents—a review. **Talanta**, 2010. 1090-1100.

FERREIRA, A. O.; SOUZA, G. F. **Preparações Oraís Líquidas**. 3. ed. São Paulo: Lmc - Pharmabooks, 2011

GEORGOPAPADAKOU, N. H.; WALSH, T. J. Antifungal Agents: Chemotherapeutic Targets. **ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY**, 1996. 279-291.

GIAM, J. A.; MCLACHLAN, A. J. Extemporaneous product use in paediatric patients: a systematic review. **International Journal of Pharmacy Practice**, 2008. 3-10.

GOBETTI, C. **AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE DERIVAÇÃO FARMACÊUTICA HOSPITALAR DE TIZANIDINA**. 2017. 134 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017

HURTADO, F. K. *et al.* Microbiological Assay and HPLC Method for the Determination of Fluconazole in Pharmaceutical Injectable Formulations. **Latin American Journal of Pharmacy**, 2008. 224-228.

NAHATA, M. C.; LOYD V. ALLEN, J. Extemporaneous Drug Formulations. **Clinical Therapeutics**, 2008. 2112-2119.

PUBCHEM COMPOUNDS. Compound Summary. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3365>. Acesso em: 15.05.2018

- RIBANI, M. *et al.* VALIDAÇÃO EM MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS E ELETROFORÉTICOS. **Química Nova**, 2004. 771-780.
- ROWE, Raymond C; SHESKEY, Paul J; QUINN, Marian e. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. London: Rps Publishing, 2009.
- SHEEHAN, D. J.; HITCHCOCK, C. A.; SIBLEY, C. M. Current and Emerging Azole Antifungal Agents. **CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS**, 1999. 40-79.
- SOUZA, Gilberto Barcelos. **Manipulação Magistral de Medicamentos em Pediatria**. 2. ed. São Paulo: Pharmabooks, 2003.
- SWEETMAN, Sean C. (Ed.). **Martindale: The Complete Drug Reference**. 36. ed. London: Rps Publishing, 2009. 3709 p.
- United States Food and Drug Administration (US-FDA). Reviewer Guidance, Validation of Chromatographic Methods, 1994.
- USP 41. **The United States Pharmacopeia**. 41. ed. Rockville: United States Pharmacopeia Convention, 2017
- VENSEL, T. D. H. FLUCONAZOLE: A VALUABLE FUNGISTATIC. **ANTIBIOTICS REVIEW**, 2002. 181-183.
- WHITE, T. C.; MARR, K. A.; BOWDEN, R. A. Clinical, Cellular, and Molecular Factors That Contribute to Antifungal Drug Resistance. **CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS**, 1998. 382-402.