

MESTRADO
TECNOLOGIA FARMACÊUTICA

ESTUDO DA ESTABILIDADE DE SUSPENSÕES ORAIS DE FLUDROCORTISONA PARA USO PEDIÁTRICO

Sara da Costa Ribeiro

M
2022



Sara da Costa Ribeiro. Estudo da estabilidade de suspensões
orais de fludrocortisona para uso pediátrico



Estudo da estabilidade de suspensões orais
de fludrocortisona para uso pediátrico

Sara da Costa Ribeiro





Estudo da estabilidade de suspensões orais de fludrocortisona para uso pediátrico

Sara da Costa Ribeiro

Dissertação do 2º Ciclo de Estudos Conducente ao Grau de
Mestre em Tecnologia Farmacêutica

Trabalho realizado sob orientação do Prof. Doutor Paulo Jorge Cardoso da Costa
e da Dr^a Renata Barbosa

Novembro de 2022

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA DISSERTAÇÃO/TESE APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE;

Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradecer ao Prof. Doutor Paulo Costa por toda a orientação, apoio, ensinamentos, sugestões e disponibilidade para esclarecer todas as minhas dúvidas ao longo de todo o trabalho, quer laboratorial quer teórico.

À Dra Renata Barbosa pelo apoio e disponibilidade para colaborar neste estudo.

Aos Serviços Farmacêuticos do Centro Hospitalar Universitário São João pelo fornecimento das matérias-primas necessárias à realização do trabalho.

À Dra. Elsa Coutinho, diretora técnica da Farmácia Lima Coutinho, por ter permitido a flexibilidade do meu horário de trabalho, durante 2 anos, para concretizar este mestrado.

Às minhas colegas de trabalho, Ana, Gisela, Margarida e Sandra, pelo incentivo e compreensão sempre que foi necessário ajustar o meu horário de trabalho.

Ao Joel Fonseca pelo apoio prestado no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica.

Aos meus pais, irmão e restante família, que se mostrou presente, pelo apoio, ajuda, compreensão e motivação ao longo destes 2 anos.

Aos amigos que estiveram presentes durante esta etapa, com quem discuti ideias, partilhei conhecimentos e por todo o apoio.

Resumo

A fludrocortisona é um corticoide sintético com ação anti-inflamatória e antialérgica, tendo como pró-fármaco o acetato de fludrocortisona. É utilizada, sobretudo, quando existe um défice da hormona aldosterona em tratamentos de insuficiência adrenocortical primária e secundária na doença de Addison, distúrbios adrenogenitais, hipotensão e várias etiologias de hipovolemia.

A fludrocortisona existe, atualmente, sob a forma de comprimidos de 100 µg apesar de não ser comercializada em Portugal. Por isso, recorre-se à sua importação para posterior manipulação sob a forma de suspensão oral, para que se possa dar resposta às necessidades da classe pediátrica, uma vez que esta é uma terapêutica que pode ser administrada desde o nascimento.

A suspensão oral é uma das formas farmacêuticas mais indicada para administração em Pediatria, garantindo-se o cumprimento da terapêutica e a facilidade de adaptação posológica à medida que a criança cresce. Contudo, a estabilidade da preparação é muito importante para que esta mantenha as características ao longo do período de tratamento.

Assim, ao longo deste trabalho intitulado “Estudo da estabilidade de suspensões orais de fludrocortisona para uso pediátrico” foram avaliados aspetos relacionados com a estabilidade física, como as características organoléticas, tamanho das partículas, a reologia, pH e volume de sedimentação da suspensão oral e, também, com a estabilidade química no que se refere ao doseamento da substância ativa.

Este estudo foi realizado em parceria com os Serviços Farmacêuticos do CHUSJ, no Porto, com o objetivo de estudar a possibilidade de extensão do prazo de utilização da suspensão oral de fludrocortisona preparada por eles ao qual, por falta de estudos deste tipo, lhe atribuem 14 dias, se conservada entre 2 a 8°C, como forma de facilitar as deslocações ao hospital para obter o medicamento. Também foram realizadas, no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, suspensões orais em veículo B9 a partir de comprimidos de fludrocortisona, pó de fludrocortisona e substituindo o conservante presente – concentrado de parabenos, pelo sorbato de potássio para analisar as diferenças, caso existam, e minimizar potenciais reações adversas, como consequência do uso de parabenos.

Palavras-chave: fludrocortisona, pediatria, medicamentos manipulados, suspensão oral, estabilidade física e química.

Abstract

Fludrocortisone is a synthetic corticosteroid with anti-inflammatory and anti-allergic properties, with fludrocortisone acetate as a prodrug. It is mainly used when there is a deficit of the hormone aldosterone in primary and secondary adrenocortical treatments in Addison's disease, adrenogenital disorder, hypotension, and hypovolemia.

Fludrocortisone exists in the form of 100 µg tablets although it is not being commercialized in Portugal at the moment. Therefore, it is imported for further compounding in the form of an oral suspension to respond the paediatric needs, as this is a therapy that can be administered from birth.

Oral suspension is a pharmaceutical form more favourable for paediatric patients because it ensures compliance with therapy and ease of dose adaptation as the child grows. However, the preparations stability is very important though the duration of during the treatment.

So, during the work, named "Estudo da estabilidade de suspensões orais de fludrocortisona para uso pediátrico" some aspects related to the physical stability were evaluated such as organoleptic characteristics, particles size, rheology, pH, and oral suspension sedimentation volume as well as the chemical stability of the active substance (assay).

This study was carried out in partnership with Serviços Farmacêuticos of CHUSJ, in Porto, with the purpose of studying the possibility of extending the stability of fludrocortisone oral suspensions. Due to lack of studies, they attribute 14 days if stored between 2 and 8°C. Thus, trips to the hospital to purchase the medication would be facilitated. In the pharmaceutical technology laboratory of the Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, oral suspensions with B9 vehicle were also carried out from fludrocortisone tablets, powder and replaced the preservative – parabens concentrate with potassium sorbate to analyse the differences and minimize adverse reactions because of parabens use.

Keywords: fludrocortisone, pediatric, compounding medicines, oral suspension, physical and chemical stability.

Índice

1	Introdução	1
1.1	Suspensões orais.....	3
1.1.1	Tamanho de partículas	4
1.1.2	Reologia.....	4
1.2	Excipientes.....	9
1.3	Fármaco em estudo	12
1.4	O medicamento.....	14
1.5	Tipos de estabilidade	14
1.6	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)	17
1.7	Prazos de utilização	18
1.8	Objetivos.....	19
2	Materiais e métodos	20
2.1	Materiais	20
2.1.1	Fármaco.....	20
2.1.2	Solvente.....	20
2.1.3	Eluentes.....	21
2.1.4	Excipientes.....	21
2.2	Métodos	23
2.2.1	Método de doseamento da fludrocortisona	23
2.2.2	Preparação do veículo B9 e do veículo com conservante alternativo	26
2.2.3	Soluções padrão	29
2.2.3.1	Soluções padrão para cada matéria-prima.....	29
2.2.3.2	Soluções padrão de fludrocortisona em pó	30
2.2.3.3	Soluções padrão de veículo B9 com comprimidos de fludrocortisona .	30
2.2.3.4	Soluções padrão de veículo B9 com fludrocortisona em pó	31
2.2.4	Reologia.....	31
2.2.5	Tamanho das partículas.....	32
2.2.6	Determinação do pH	32

2.2.7	Sedimentação	33
3	Resultados e discussão	34
3.1	Estabilidade química	34
3.1.1	Espetro UV.....	34
3.1.2	Simetria do pico, número de pratos teóricos e fator k.....	34
3.1.3	Curva de calibração	35
3.1.3.1	Linearidade	36
3.1.3.2	Precisão.....	37
3.1.3.3	Exatidão.....	37
3.1.3.4	Limite de deteção.....	37
3.1.3.5	Limite de quantificação	37
3.1.3.6	Seletividade	37
3.1.3.7	Amplitude.....	37
3.1.4	Doseamento.....	38
3.2	Estabilidade física	43
3.2.1	Características organoléticas	43
3.2.2	Determinação de pH	44
3.2.3	Ensaio de sedimentação	45
3.2.4	Reologia.....	46
3.2.5	Tamanho de partículas	48
4	Conclusões	51
5	Referências bibliográficas	53
6	Anexos.....	59
6.1	Embalagens de acondicionamento	59
6.2	Aparelhos utilizados	60
6.3	Aspeto das suspensões no início e no fim do ensaio de sedimentação	63
6.4	Ficha de preparação da suspensão oral de fludrocortisona do CHUSJ.....	64
6.5	Resultados obtidos para a simetria de pico, pratos teóricos e fator de retenção (K') para as diferentes percentagens de eluentes analisadas.....	65

6.6	Resultados obtidos no doseamento de fludrocortisona	66
6.7	Resultados da determinação de pH	71
6.8	Resultados do ensaio de sedimentação	72
6.9	Gráficos representativos dos ensaios de viscosidade	73
7	Glossário	74

Índice de figuras

Figura 1 - Comportamento não-Newtoniano: a) pseudoplástico e b) dilatante.....	6
Figura 2 - Comportamentos Newtonianos e não-Newtonianos.....	7
Figura 3 - Curvas representativas de tixotropia e reopexia.....	7
Figura 4 - Estrutura química da fludrocortisona.....	13
Figura 5 - Estrutura química do acetato de fludrocortisona.....	13
Figura 6 - Espectro UV da fludrocortisona.....	34
Figura 7 - Curva de calibração da fludrocortisona.....	36
Figura 8 - Gráfico dos resíduos, à esquerda, e gráfico para o teste Rikilt, à direita.	36
Figura 9 - Cromatogramas das matérias-primas presentes no veículo B9, do sorbato de potássio e da fludrocortisona. Legenda referente aos algarismos: 1 - Sorbato de potássio; 2 - Padrão de fludrocortisona; 3 - Polissorbato 20; 4 – Propilparabeno; 5 – Metilparabeno; 6 - Celulose microcristalina; 7 - Essência de banana; 8 - Carboximetilcelulose Sódica; 9 - Sacarina; 10 - Goma Xantana.....	38
Figura 10 - Cromatogramas do veículo B9 com comprimidos de fludrocortisona (em cima) e do veículo B9 com fludrocortisona em pó (em baixo).	39
Figura 11 - Cromatogramas das cinco suspensões orais em estudo no tempo zero. Legenda dos algarismos: 1 - CVS; 2 – PVS; 3 – SSJ; 4 - PVP; 5 – CVP.....	40
Figura 12 - Cromatogramas das cinco suspensões orais em estudo passados 31 dias. Legenda dos algarismos: 1 – PVS; 2 – PVP; 3 - CVS; 4 – CVP; 5 – SSJ.....	40
Figura 13 - Gráfico referente às concentrações de fármaco ao longo dos 31 dias de estudo.	41
Figura 14 - Aspeto das cinco suspensões em estudo, sendo A - SSJ; B - CVP; C - CVS; D - PVP; E - PVS.....	43
Figura 15 - A - Aspeto do veículo B9 sem conservantes; B - Aspeto do veículo B9 com concentrado de parabenos como conservante; C - Aspeto do veículo alternativo, com sorbato de potássio como conservante.	43
Figura 16 - Gráfico representativo do volume de sedimentação para cada uma das suspensões.....	45
Figura 17 - Viscosidade ao longo do tempo para o veículo B9 realizado pelo CHUSJ (esquerda) e no laboratório da FFUP (direita).	46
Figura 18 - Gráficos representativos da viscosidade das 5 suspensões orais em análise em função do tempo.	47
Figura 19 - Gráfico referente ao tamanho das partículas no tempo 0 para as suspensões estudadas.	49
Figura 20 - Variação do tamanho das partículas ao longo dos 28 dias de análise.....	50

Figura 21- Embalagem e frasco de acondicionamento dos comprimidos de acetato de fludrocortisona.....	59
Figura 22 - Embalagem de acondicionamento (A) e pó de acetato de fludrocortisona (B).	59
Figura 23 – HPLC - Dionex UltiMate 3000.....	60
Figura 24 – Difrátometro laser – Mastersizer 3000.....	60
Figura 25 – Reómetro - KinexusLab.....	61
Figura 26 - Agitador mecânico.	61
Figura 27 - Banho de ultrassons.....	62
Figura 28 – Espectrofotómetro de feixe duplo.....	62
Figura 29 - Potenciómetro.....	62
Figura 30 - Ensaio de sedimentação no tempo zero.....	63
Figura 31 - Ensaio de sedimentação passados 31 dias.....	63
Figura 32 - Parte da Ficha de Preparação da Suspensão oral de Fludrocortisona dos SF.	64
Figura 33 - Gráficos da simetria de pico, pratos teóricos e fator de retenção (K').	65
Figura 34 – Gráfico da viscosidade em função da taxa de corte (à esquerda) e gráfico da tensão de corte em função da taxa de corte (à direita) para as 5 suspensões em análise.	73

Índice de tabelas

Tabela I - Diferentes tipos de estabilidade segundo a USP (40).....	15
Tabela II - Testes a realizar para a caracterização das alterações físicas, químicas e microbiológicas (42).	16
Tabela III - Informações acerca do acetato de fludrocortisona sob a forma de comprimidos e pó.....	20
Tabela IV - Informações acerca do álcool etílico.	21
Tabela V - Informações acerca do acetonitrilo e da água acidificada a pH=3.	21
Tabela VI - Informações acerca das matérias-primas.....	23
Tabela VII - Diferentes percentagens testadas para os eluentes utilizados.	26
Tabela VIII - Condições para realização das análises em HPLC.	26
Tabela IX - Quantidade para cada uma das matérias-primas.	28
Tabela X - Quantidade de sorbato de potássio, que não faz parte da fórmula original de Veículo B9.....	29
Tabela XI - Matérias-primas necessárias à preparação do Concentrado de Parabenos..	29
Tabela XII - Quantidades pesadas para realizar os padrões de fludrocortisona.	30
Tabela XIII - Condições para realização do teste V002 – Three Shear Rate.	31
Tabela XIV - Condições para realização do teste V001 - Shear Rate Ramp.	32
Tabela XV - Dados acerca dos padrões para realização da curva de calibração.	35
Tabela XVI - Valores referentes à curva de calibração.....	35
Tabela XVII - Resultados obtidos para a suspensão oral de comprimidos de fludrocortisona em veículo B9 com parabenos.	66
Tabela XVIII - Resultados obtidos para a suspensão oral de comprimidos de fludrocortisona em veículo alternativo com sorbato de potássio.	67
Tabela XIX - Resultados obtidos para a suspensão oral de fludrocortisona em pó em veículo B9 com parabenos.	68
Tabela XX - Resultados obtidos para a suspensão oral de fludrocortisona em pó em veículo alternativo com sorbato de potássio.	69
Tabela XXI - Resultados obtidos para a suspensão oral de fludrocortisona preparada pelos SF do CHUSJ.....	70
Tabela XXII- Resultados obtidos de pH para cada suspensão oral à temperatura indicada.	71
Tabela XXIII- Resultados do volume de sedimentação ao longo do tempo para cada suspensão oral.....	72

Índice de equações

Equação 1 - Lei de Stokes	4
Equação 2 - Lei de Newton	5
Equação 3 - Cálculo do fator de retenção.	24
Equação 4 - Limite de deteção.	25
Equação 5 - Limite de quantificação.....	25
Equação 6 – Cálculo do volume de sedimentação.	33

Lista de abreviaturas e símbolos

ACTH - Hormona adrenocorticotrófica

AIM – Autorização de Introdução no Mercado

BPF – Boas Práticas de Fabrico

CHMP – *Committee for Medicinal Products for Human Use* - Comité para Medicamentos de Uso Humano

CHUSJ – Centro Hospitalar Universitário São João

CVP – Suspensão oral de comprimidos de fludrocortisona em veículo B9 com parabenos

CVS – Suspensão oral de comprimidos de fludrocortisona em veículo alternativo com sorbato de potássio

EMA – *European Medicines Agency* - Agência Europeia de Medicamentos

EUPFI – Iniciativa Europeia para Formulações Pediátricas

FDA – *Food and Drug Administration*

FFUP – Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto

FGP – Formulário Galénico Português

ICH – Conselho Internacional para a Harmonização

IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada

OMS – Organização Mundial de Saúde

q.b.p. – quanto basta para

Ph. Eur. – *European Pharmacopoeia* - Farmacopeia Europeia

PVP – Suspensão oral de Pó de fludrocortisona em veículo B9 com parabenos

PVS – Suspensão oral de Pó de fludrocortisona em veículo alternativo com sorbato de potássio

RAM – Reações Adversas a Medicamentos

RT – Tempo de retenção

SF – Serviços Farmacêuticos

SSJ – Suspensão oral de fludrocortisona em veículo B9, com parabenos, preparada pelos Serviços Farmacêuticos do CHUSJ

USP – *United States Pharmacopoeia* - Farmacopeia dos Estados Unidos da América

1 Introdução

A necessidade de uma terapia individualizada, pelo ajuste de doses, formas farmacêuticas específicas, excipientes não tolerados, associação de fármacos ou simplesmente pela necessidade de um medicamento não produzido pela indústria farmacêutica, entre outros fatores, leva a que a manipulação de medicamentos em farmácias se mantenha como forma de complementar a produção industrial, quando esta não consegue dar resposta a todas as necessidades dos doentes (1, 2).

A manipulação é assim, hoje em dia, uma prática bastante recorrente em farmácia hospitalar ou farmácia de oficina, seguindo protocolos e obedecendo às Boas Práticas de Fabrico (BPF) (1, 2).

A manipulação é realizada por profissionais de farmácia qualificados e dotados de prática e conhecimentos específicos, farmacêuticos e Técnicos Superiores de Diagnóstico e Terapêutica - técnicos de farmácia, sendo que os farmacêuticos têm a responsabilidade acrescida da supervisão da sua preparação e dispensa, com decisão de aprovação/rejeição de lote. Estes devem atender às necessidades específicas do doente, patologias associadas, idade, o comprometimento ou não da via oral, capacidade para realizar a automedicação (no tratamento em ambulatório) e características organoléticas do manipulado, assim como, cumprimento de outros ensaios de controlo de qualidade aplicáveis a cada medicamento manipulado (1, 2).

A Pediatria é uma das especialidades que mais usufrui da preparação de medicamentos manipulados, uma vez que muitos dos fármacos necessários se encontram no mercado sob formas farmacêuticas dirigidas a adultos, como comprimidos e cápsulas. As preparações orais líquidas são as formas farmacêuticas mais adequadas e prescritas pela dificuldade de deglutir sólidos nesta faixa etária, pela facilidade do ajuste de doses e adaptação das características organoléticas de forma a promover a adesão à terapêutica. Seja pela necessidade de alterar a forma farmacêutica, dosagem, excipientes, características organoléticas, etc., adaptar a formulação torna-se uma tarefa por vezes difícil, tendo em conta todos os aspetos a ter em atenção, como (3-5):

- Sabor agradável;
- Dose prescrita;
- A forma farmacêutica mais adequada;
- A via de administração preferível;
- A farmacodinâmica e farmacocinética do fármaco em causa;

- Estabilidade físico-química da formulação;
- Estabilidade microbiológica da formulação;

Nas preparações pediátricas, a escolha dos excipientes e a sua inclusão nos medicamentos requer uma atenção especial quanto à segurança dos mesmos, pela forma como poderão atuar num organismo em desenvolvimento, uma vez que a população pediátrica é bastante heterogénea desde recém-nascidos até adolescentes, e onde as diferenças fisiológicas, metabólicas, etc. são bastante visíveis, comprometendo a farmacocinética e farmacodinâmica do medicamento. Dado que esta população é mais suscetível de desencadear reações alérgicas do que os adultos é de evitar a utilização de excipientes conhecidos como potenciais irritantes e/ou alergizantes. Contudo, deve ser sempre avaliada a relação risco – benefício da utilização de um determinado excipiente em detrimento de outro, de diferente forma farmacêutica e/ou via de administração. Portanto, os principais aspetos a ter em consideração na escolha de um excipiente passam pela sua função na formulação, o seu perfil de segurança, a duração do tratamento, a gravidade da doença a tratar, a aceitabilidade da terapêutica por parte do doente (no que diz respeito a características organolépticas da formulação por exemplo), alergias e sensibilização (4, 6).

Por isso, com o objetivo de facilitar e promover o desenvolvimento de medicamentos pediátricos a nível internacional foi publicada em julho de 2000 pelo ICH, Conselho Internacional para a Harmonização de Requisitos Técnicos para Medicamentos de Uso Humano, a primeira *guideline* para a regulamentação de medicamentos pediátricos intitulada de “*Guideline E1 (R1): Clinical investigation of medicinal products in the paediatric population*”, salientando os principais problemas no seu desenvolvimento, os estudos clínicos e novas abordagens à segurança e eficácia (3).

Mais tarde, em 2006, o Comité para Medicamentos de Uso Humano (CHMP) da Agência Europeia de Medicamentos (EMA) publica o “*Reflection paper: formulations of choice for the paediatric population*”, onde focam as diferenças das faixas etárias na pediatria, o desenvolvimento farmacológico tendo em conta a absorção, distribuição, metabolização e excreção, as diferentes vias de administração, doses, excipientes, entre outros tópicos (7).

Em 2007, foi criado o grupo de trabalho *European Paediatric Formulation Initiative* (EUPFI), constituído por membros da Indústria Farmacêutica, dos hospitais e universidades, com o intuito de melhorar as formulações pediátricas, avaliar sistematicamente os excipientes utilizados para recém-nascidos, bem como resolver problemas relacionados com excipientes empregues nas formulações. A *guideline*

“Excipients in the labelling and package leaflet of medicinal products for human use”, inclui a lista de excipientes que devem constar nos rótulos e folhetos informativos e como devem ser indicados, uma vez que os titulares e os requerentes de Autorizações de Introdução no Mercado (AIM) necessitam de identificar os excipientes empregues em cada medicamento para uso humano na União Europeia (3, 8).

As formulações orais líquidas, por apresentarem maior flexibilidade de dose e facilidade de administração, são as mais utilizadas nesta faixa etária (4, 7).

1.1 Suspensões orais

Neste trabalho serão abordadas as suspensões orais que se caracterizam como um sistema heterogéneo em que a fase externa é líquida e a fase interna é constituída por partículas sólidas que não se dissolvem no meio em que se encontram (9).

Desta forma, as suspensões são frequentemente empregues quando se pretende mascarar o sabor desagradável que determinado fármaco pode apresentar, aumentar uma ação medicamentosa retardando a absorção do fármaco por via injetável ou pela diminuição da solubilidade dos fármacos em veículos comumente utilizados (9).

Contudo, as suspensões são sistemas termodinamicamente instáveis, uma vez que as partículas se encontram dispersas e à medida que diminui a sua energia têm tendência a aglomerar-se, flocular ou originar agregados que sedimentam sem voltarem a dispersar. Se a fase interna está homogeneamente dispersa sem flóculos ou agregados, a velocidade de sedimentação é lenta, o sobrenadante tem aspeto turvo e a suspensão mantém-se mais tempo com melhor aspeto, designa-se de suspensão defloculada. Se as partículas formam agregados, a velocidade de sedimentação é rápida, o sedimento dispersa rapidamente por agitação, o sobrenadante é límpido e a suspensão se desfaz rapidamente, estamos perante uma suspensão floculada e, por isso, pouco estável. Pode também acontecer uma agregação em que se formam verdadeiros agregados fortemente aglomerados em que é impossível redispersá-los por agitação. Assim, a redispersibilidade é uma característica importante para a estabilidade física de uma suspensão e por isso, a suspensão ideal deve apresentar as seguintes características (9):

- Não depositar rapidamente;
- Facilmente redispersível por agitação;
- Manter-se em dispersão homogénea durante o maior tempo possível;
- Apresentar um aspeto homogéneo sem a presença de aglomerados de partículas e sem se verificar o crescimento de cristais durante o armazenamento;
- Apresentar a concentração desejada;

- Os excipientes devem ser os adequados;
- Viscosidade ideal para fluir facilmente do recipiente de acondicionamento e ser administrada;
- As condições de transporte e armazenamento devem ser as exigidas pelo fármaco e veículo em causa;
- Indicar no rótulo “agitar antes de usar”.

1.1.1 Tamanho de partículas

Nas suspensões o tamanho das partículas varia geralmente entre 0,1 µm e algumas centenas de micrómetros. É importante que as partículas apresentem um tamanho adequado para que se encontrem homogeneamente dispersas no veículo pelo menos o tempo necessário à administração, e sejam rapidamente ressuspensas após sedimentação (9).

Partindo da *Lei de Stokes*, que descreve a relação entre a velocidade de uma partícula à medida que cai num fluido, conclui-se que quanto menor o tamanho das partículas (raio) e mais viscoso for o veículo menor será a velocidade da partícula, logo mais lenta será a sua deposição. Durante a sedimentação, assim que a partícula atinge uma velocidade constante, porque a força de arrasto iguala a força da gravidade, a partícula cai sem aceleração e atinge a velocidade terminal. Esta lei é explicada pela Equação 1 representada abaixo (9, 10):

$$V_T = \frac{2r^2(\rho_P - \rho_L)}{9\mu}$$

Equação 1 - Lei de Stokes

onde V_T é a velocidade de sedimentação, r é o raio da partícula, μ é viscosidade da fase externa, ρ_P é a densidade da partícula e ρ_L é a densidade do líquido.

1.1.2 Reologia

A reologia é uma ciência que estuda o escoamento e deformação da matéria que inclui vários conceitos como a viscosidade, a consistência e a textura (11, 12).

A viscosidade é uma das principais características para definição do comportamento reológico dos líquidos. Define-se pela resistência ao movimento de camadas líquidas adjacentes, onde a viscosidade de um fluido varia consoante a tensão de corte (τ) e a sua consistência depende da duração e da taxa de deformação em corte ($\dot{\gamma}$). É afetada por

vários fatores como pH, temperatura, concentração, adição de excipientes, etc. e também é considerada uma característica importante nas formas farmacêuticas semissólidas para uma administração eficaz das mesmas. A viscosidade é representada pela seguinte *Lei de Newton* (Equação 2) que classifica o comportamento dos líquidos como Newtoniano ou não-Newtoniano (11, 13, 14).

$$\mu = \frac{\tau}{\dot{\gamma}}$$

Equação 2 - Lei de Newton

onde μ é a viscosidade (Pa.s), τ é a tensão de corte (Pa) e $\dot{\gamma}$ é a taxa de corte ou razão de corte (s^{-1}).

Na equação anterior vemos representada a velocidade de deformação ou taxa de corte (*shear rate*), pela letra grega $\dot{\gamma}$, que mede a influência da velocidade na variação da deformação, e que por sua vez influencia o limite de escoamento, e a tensão de corte (*shear stress*), representada pela letra grega τ , que é a força por unidade de área exercida em sentidos iguais ou opostos (14).

Num fluido com comportamento Newtoniano a viscosidade não varia com a taxa de deformação ou com o tempo, apesar de variar com a temperatura e a pressão. São considerados fluidos ideais sem apresentar qualquer tipo de elasticidade e anomalias extensivas. Por isso a sua representação gráfica será uma linha constante. São exemplo a água, etanol, glicerina, etc. (13, 14).

Num fluido com comportamento não-Newtoniano não há uma relação linear entre a taxa de deformação e a tensão de corte, apresentando características elásticas e, por isso, graficamente não representa uma linha reta. Como exemplo de comportamento não-Newtoniano existem as pomadas, pastas, cremes, etc. Estes podem ainda ser classificados em pseudoplásticos ou dilatantes (13, 14).

Nos sistemas pseudoplásticos, ou também chamados reofluidificantes (Figura 1), as partículas em repouso encontram-se desordenadas e, assim que sofrem uma pressão alinham-se na direção da mesma e diminuem o espaço existente entre elas. Nestes casos, ao aumentar a pressão a viscosidade do sistema diminui proporcionalmente. Normalmente, são considerados sistemas tixotrópicos uma vez que a viscosidade diminui em função do tempo. Graficamente a curva do fluido é côncava (11, 13, 15).

Os sistemas dilatantes, ou também chamados reoespessantes (Figura 1), normalmente caracterizam-se por serem líquidos com uma elevada concentração de partículas sólidas em suspensão. Neste caso as partículas sólidas encontram-se

envolvidas por líquido, que funciona como lubrificante, e quando sofrem uma força externa estes líquidos deixam de lubrificar as partículas que chocam com mais frequência, resultando num aumento da resistência ao escoamento. Representam-se graficamente por uma curva convexa (11, 15).

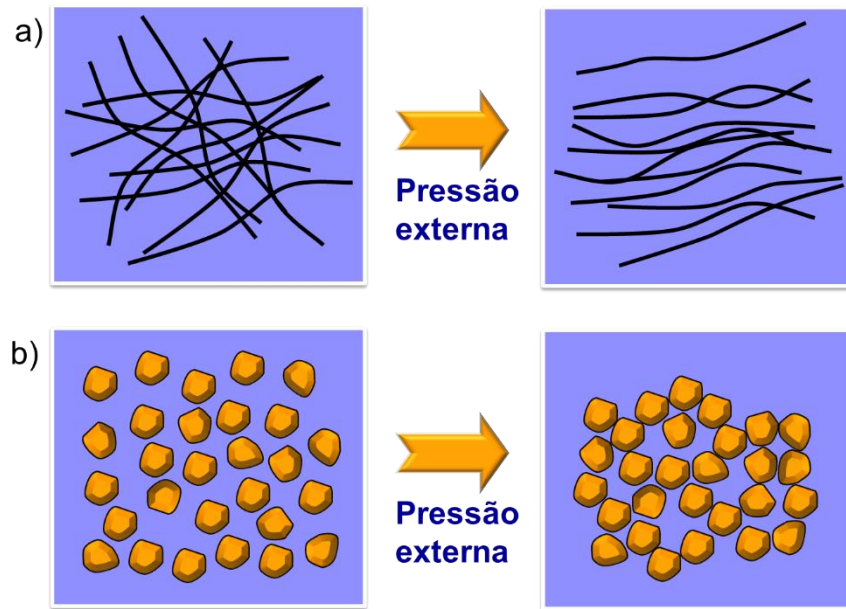


Figura 1 - Comportamento não-Newtoniano: a) pseudoplástico e b) dilatante.

Nos sistemas pseudoplásticos com tensão de cedência as partículas deslocam-se entre si quando sofrem uma pressão externa. Contudo, é necessário que a força exercida seja de determinada intensidade para que o fluido comece a escoar. Graficamente podem ser representados por uma curva côncava, convexa ou retilínea que não passa na origem (11, 15).

Na Figura 2 estão representadas as curvas de cada tipo de comportamento, Newtoniano e não-Newtoniano (16).

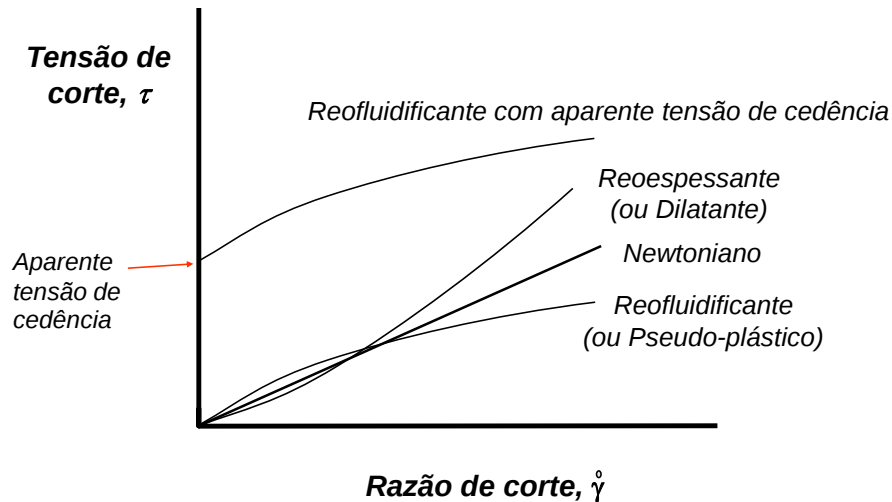


Figura 2 - Comportamentos Newtonianos e não-Newtonianos.

Associado ao tipo de material está o termo tixotropia. Este conceito foi introduzido pela primeira vez por Freundlich, em 1935, e designa a mudança que ocorre no material quando a sua estrutura interna é alterada pela agitação, toque, aplicação de pressão, etc. retomada por repouso. Desta forma, verifica-se uma redução da viscosidade em função do aumento da tensão de corte e só se considera que o material é tixotrópico (Figura 3) se este recupera a sua forma original lentamente após a tensão deixar de ser exercida. O fenómeno inverso é a reopexia, também chamado de antitixotropia (Figura 3), em que a viscosidade aumenta com o aumento da duração da força aplicada (11, 13).

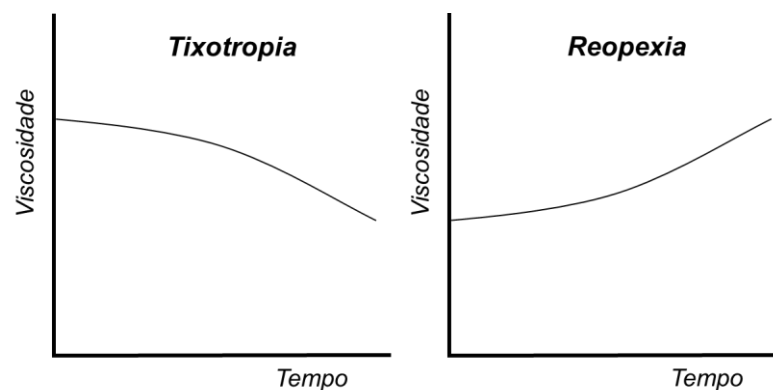


Figura 3 - Curvas representativas de tixotropia e reopexia.

Para realizar os ensaios reológicos pode ser utilizado um reómetro rotacional que se caracteriza por um instrumento de alta precisão, onde o fluido em estudo é sujeito a uma tensão de corte por um cilindro, cone ou placas rotativas sob condições de *stress* controladas (12).

O sistema que compõe o reómetro é constituído por quatro partes: a geometria que realiza a medição; o dispositivo que aplica a tensão, o movimento de rotação ou a velocidade de rotação na geometria para que sejam executadas as medições; um dispositivo para determinar a resposta e um dispositivo para controlar a temperatura (12).

Os estudos comumente realizados nos reómetros rotacionais são de (12, 17):

- Viscosidade – são testes rotacionais onde se aplica uma tensão de corte ao fluido para medição da taxa de deformação provocada no mesmo e, por isso, como ocorre uma quebra de ligações, são destrutivos.
- Relaxamento – a tensão de corte é aumentada e de seguida diminuída, e a medida da taxa de corte resultante constitui a curva. As curvas formadas, sendo côncavas ou convexas, designam se o material é dilatante ou pseudoplástico.
- Arrastamento – é aplicada uma tensão constante na amostra e monitoriza-se ao longo do tempo a deformação elástica e/ou o fluido viscoso resultante. Assim, é possível analisar tanto o grau de deformação elástica, ao longo do teste, como a recuperação total da deformação assim que cessa a tensão deformante.
- Oscilatórios – são utilizados para testar todo o tipo de materiais viscoelásticos, de baixa viscosidade, suspensões, emulsões, espumas, etc. É uma técnica não destrutiva uma vez que é aplicada uma tensão bastante baixa, para deformar as ligações originais, permitindo que a formulação mantenha a estrutura inicial.

Para a execução dos testes no reómetro é necessário seleccionar a peça que mais se adequa, sendo esta removível, e que pode apresentar diferentes geometrias como: cilindros concêntricos para líquidos de baixa viscosidade e secagem rápida; prato-prato para amostras bastante viscosas e que contenham partículas maiores que 5 μm ; cone-prato para as restantes amostras (17).

A geometria cone-prato resulta do formato da peça que é inserida no reómetro para que sejam realizadas as medições dos testes de tixotropia e viscosidade. Consiste num cone com baixo ângulo de incidência, que é encaixado na parte superior e roda sobre si e um prato plano fixo na parte inferior do reómetro, onde se coloca a amostra (14, 17).

Nesta geometria apenas é necessária uma pequena quantidade de amostra, a sua limpeza é simples, as condições são homogêneas e, por isso, resulta em taxas de corte constantes; as bolhas de ar possivelmente existentes são eliminadas devido ao formato cónico e os testes devem ser realizados a uma temperatura constante para que não ocorram alterações na amostra, como por exemplo expansão térmica (17).

1.2 Excipientes

De facto, os excipientes são imprescindíveis na formulação de um medicamento, mas são também cada vez mais os estudos realizados em volta destes, de forma a perceber quais os seus riscos e efeitos adversos que podem desencadear por não serem totalmente isentos de efeitos tóxicos. Por isso, a manipulação e produção de medicamentos pediátricos passa também pelo desafio de produzir medicamentos eficazes, de qualidade, nas doses adequadas e de fácil administração, limitando o uso de excipientes mais tóxicos ou suscetíveis de desencadear efeitos adversos (3, 18).

As *guidelines* existentes sobre os excipientes empregues em formulações pediátricas são limitadas, contudo todas defendem que deverão ser em menor número possível, sendo o veículo à base de água, sem corantes, sem sabor e sem açúcar. Os conservantes, adoçantes e espessantes são classes de excipientes que representam uma grande percentagem da constituição destas formulações (18, 19).

A função principal dos **conservantes** é a inibição do crescimento de microrganismos. São utilizados em cosméticos, formulações líquidas, bens alimentares, etc. que ao serem contaminados por bactérias e fungos sofrem alterações na cor, odor, textura, perdendo a qualidade. São considerados aceitáveis na maioria das vezes, desde que seja avaliada a sua relação risco-benefício e devem ser usados na menor concentração possível para a sua ação. Para além dos parabenos, existem outras opções como o benzoato de sódio, sorbato de potássio, propionato de cálcio, entre outros (4, 18-20).

Os parabenos são o grande grupo de conservantes utilizados em diversas formulações, principalmente cosméticos. Derivam do ácido p-hidroxibenzóico (PHBA) naturalmente presente em frutas e vegetais. Incluem o propilparabeno, o metilparabeno, o etilparabeno e o butilparabeno todos legalmente permitidos na Europa. A sua atividade como conservante é mais evidente entre valores de pH de 4 a 8. A concentração máxima estabelecida para a sua utilização é de 0,8%, quando empregues em mistura, e de 0,4% quando empregues simples, mas no caso do butilparabeno e do propilparabeno a soma das suas concentrações individuais não deve exceder os 0,14%. Nas formulações orais, encontra-se frequentemente a associação de metilparabeno e propilparabeno, com concentrações que variam de 0,015% a 0,2% e 0,02% a 0,06% respetivamente (21-25).

A grande preocupação na utilização de parabenos incide no facto de serem associados a alterações endócrinas e potenciais efeitos tóxicos. Contudo, diversos estudos demonstram que estes são rapidamente metabolizados e eliminados do organismo, quer na administração cutânea, oral ou subcutânea (butilparabeno). No caso do metilparabeno,

quando administrado oralmente, é excretado maioritariamente pela via urinária, com mais de 90% da dose excretada ao fim de 24 horas após a administração (21, 22, 25, 26).

Segundo a publicação da EMA *“Reflection paper on the use of methyl- and propylparaben as excipients in human medicinal products for oral use”*, o metilparabeno não apresenta qualquer efeito adverso a nível do sistema reprodutor masculino e feminino, tanto em adultos como na classe pediátrica. Em relação ao propilparabeno, a atividade semelhante aos estrogénios é muito fraca e sem evidência, bem como para as alterações endócrinas (efeitos espermatozóxicos, concentração de testosterona, etc.) que não afetarão o sistema reprodutor masculino quando utilizados nas concentrações estipuladas (21, 22, 25, 26).

Os testes realizados para toxicidade aguda, subcrónica e crónica, utilizando diversas vias de exposição, demonstram uma baixa toxicidade sendo raras as ocorrências de irritação ou sensibilização da pele humana, quando empregues nas concentrações determinadas (21, 22, 26).

Atualmente, a sua aplicação é permitida tanto na União Europeia como no Japão, Canadá, Austrália e Estados Unidos, estando a sua utilização bastante fundamentada, pelas diversas entidades que regulam o seu uso, avaliam a toxicidade e a segurança dos produtos cosméticos, como é o caso da *Cosmetic Ingredient Review*, onde revelam que os parabenos legalmente permitidos são bem tolerados e não causam riscos para a saúde (20-22, 26).

Apesar das preocupações públicas e do uso generalizado dos parabenos, a frequência de reações alérgicas é baixa. Contudo, algumas pessoas podem sofrer algum tipo de reação alérgica a estes produtos e, nesse caso, é necessário optar por um conservante alternativo (27).

O sorbato de potássio foi o conservante escolhido para substituir o Concentrado de Parabenos na formulação. Trata-se de um conservante com propriedades antibacterianas mínimas em formulações de pH superior a 6, e antifúngicas frequentemente usado em produtos farmacêuticos, cosméticos e na alimentação. A concentração nas formulações orais e tópicas em que é empregue varia entre 0,1-0,2%, principalmente se contêm agentes tensioativos não iónicos, visto que apresenta incompatibilidades, como perda da atividade antimicrobiana e inativação por oxidação (24, 28).

A sua eficácia como conservante é mais evidente num pH entre os 3,5 -5,5, aumenta à medida que aumenta a temperatura ou a sua concentração na formulação (18, 24). Deve ser acondicionado num recipiente hermeticamente fechado, protegido da luz e a temperatura inferior a 40°C (24, 28).

Em comparação com outros conservantes, o sorbato de potássio apresenta a melhor relação risco-benefício, sendo considerado relativamente não tóxico, pois os dados existentes acerca de reações adversas nas concentrações recomendadas são poucos ou nenhuns. Apenas existem evidências de reações alérgicas cutâneas em formulações tópicas, sendo que quando ingerido em formulações orais não existem dados de reações sistémicas. Foi estabelecida pela OMS a ingestão máxima diária aceitável de 25 mg/kg de peso corporal (18, 24, 28).

Os **agentes espessantes** evitam a rápida sedimentação das partículas aumentando a viscosidade das suspensões e, por sua vez, a estabilidade física das mesmas. São exemplos de espessantes a hidroxietilcelulose, celulose microcristalina, carboximetilcelulose, goma xantana, hipromelose e hidroxipropilmetilcelulose, que não é absorvida pelo organismo e por isso o risco de toxicidade é considerado mínimo (18, 19).

Os **agentes molhantes** diminuem o ângulo de contacto entre o sólido e o líquido, facilitando a molhabilidade dos sólidos pela água ou pelas soluções aquosas. Ou seja, quando numa suspensão as partículas sólidas não são suficientemente molhadas pela fase externa, tendem a flutuar e aglomeram-se junto à superfície do líquido, sendo necessário reduzir a tensão interfacial (ângulo de contacto). São exemplo de agentes molhantes os agentes tensioativos como os polissorbatos, os ésteres de ácidos gordos como sorbitano, o laurilsulfato de sódio, o monoestearato de alumínio, etc.(9).

Os **adoçantes** desempenham um papel importante na aceitabilidade do medicamento por parte do doente. As doses devem ser controladas, sobretudo se a duração do tratamento for por um período prolongado; contudo, a utilização dos mesmos deve ser devidamente ponderada, bem como a existência de alguma condição por parte do doente que impeça que estes sejam empregues, como diabetes ou insuficiência renal grave. A sucralose aparece em estudos como opção para adoçante, em vez da sacarose por apresentar menos riscos para a saúde. Porém, tanto o “Veículo para Preparação de Suspensões orais, isento de açúcar (FGP B.9.)” como o veículo alternativo que contém sorbato de potássio como conservante, utilizados ao longo do estudo, apresentam sacarina na sua composição. A sacarina é um adoçante mais potente do que a sacarose e é utilizada frequentemente em preparações orais líquidas, mas recomenda-se o uso limitado principalmente em grávidas e crianças. Esta integra a lista dos seis adoçantes artificiais aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA) (3, 4, 18, 19, 29).

1.3 Fármaco em estudo

Quanto ao fármaco em estudo, a fludrocortisona classifica-se como um corticoide sintético, derivado fluorado da hidrocortisona, com ação anti-inflamatória e antialérgica. O acetato de fludrocortisona é considerado um mineralocorticoide e pró-fármaco da fludrocortisona. Este tem uma ação glucocorticoide 10 vezes mais potente do que a hidrocortisona e uma ação mineralocorticoide 100 vezes mais potente. Atua a nível dos tubos distais para aumentar a excreção de hidrogénio e potássio, a reabsorção de sódio e retenção de água. Desta forma, quando administrado em humanos sob a forma de acetato de fludrocortisona, é hidrolisado na sua molécula ativa – a fludrocortisona. Este fármaco é utilizado, sobretudo, quando a hormona aldosterona se encontra em falta em tratamentos de insuficiência adrenocortical primária e secundária na doença de Addison, distúrbios adrenogenitais, hipotensão e várias etiologias de hipovolemia (30-34).

Na doença de Addison, ou insuficiência adrenal primária, existe uma produção insuficiente das hormonas esteroides, cortisol e aldosterona, pelas glândulas suprarrenais localizadas acima dos rins e responsáveis pela correta produção das mesmas. Enquanto o cortisol é responsável por regular o apetite e o açúcar no sangue, a aldosterona regula o equilíbrio dos fluidos, a reabsorção de sódio, a excreção de potássio e hidrogénio e a retenção de água. Assim, na doença de Addison existe uma elevada perda de sódio na urina e altos níveis de potássio no sangue (35, 36).

Posto isto, os sintomas mais frequentes desta doença são a hipotensão, cansaço, fraqueza, falta de apetite, hiperpigmentação e perda de peso. Por sua vez, a insuficiência adrenal secundária afeta a hipófise e, conseqüentemente a produção da hormona ACTH e a insuficiência adrenal terciária o hipotálamo, causada, sobretudo, por tratamentos farmacológicos com corticoides e opioides (37, 38).

A fludrocortisona pode ser administrada desde o nascimento. A dose inicia-se em 0,150 mg por dia até aos 2 anos de idade, 0,100 mg a 0,150 mg até aos 12 anos, 0,075 mg a 0,100 mg até aos 17 anos, atingindo-se a dose mais comum, 0,100 mg por dia, na idade adulta (38). Segundo a Associação Espanhola de Pediatria a dose inicial varia entre 0,1 mg a 0,2 mg/dia para recém-nascidos e lactentes e diminui para 0,05 a 0,1 mg/dia a partir dos 2 anos de idade. O tratamento não deve ser interrompido de forma repentina para que não ocorram crises adrenais pela supressão do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (36, 39).

Este fármaco apresenta os efeitos adversos da classe dos mineralocorticoides como edema, hipertensão e hipocalémia (34).

A fórmula química da fludrocortisona é $C_{21}H_{29}FO_5$. A sua estrutura química encontra-se representada na Figura 4 e a estrutura química do acetato de fludrocortisona na Figura 5. O seu número CAS é o 127-31-1 e o nome IUPAC é (8S,9R,10S,11S,13S,14S,17R)-9-fluoro-11,17-dihidroxi-17-(2-hidroxiacetil)-10,13-dimetil-1,2,6,7,8,11,12,14,15,16 decahidrociclopenta[a]fenantreno-3-ona (33).

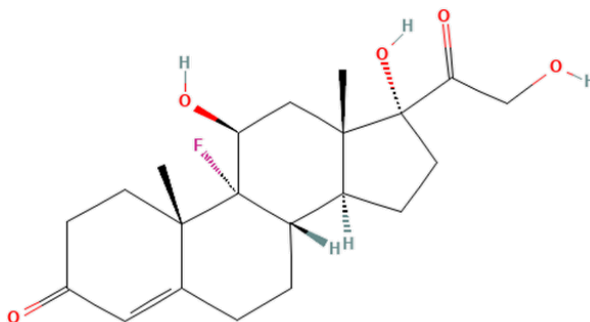


Figura 4 - Estrutura química da fludrocortisona.

A Farmacopeia Europeia (Ph. Eur.) 6.2 descreve o acetato de fludrocortisona como um pó branco ou quase branco e cristalino, praticamente insolúvel em água e moderadamente solúvel em álcool (34).

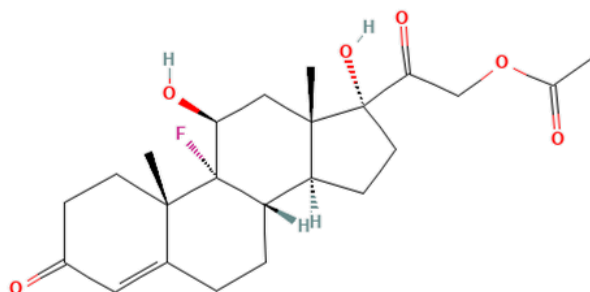


Figura 5 - Estrutura química do acetato de fludrocortisona.

Por sua vez, a Farmacopeia Americana (USP) 31 caracteriza o acetato de fludrocortisona como um pó branco a amarelo-pálido, praticamente inodoro, higroscópico e cristalino. Insolúvel em água, pouco solúvel em álcool e clorofórmio e ligeiramente solúvel em éter (34).

1.4 O medicamento

Segundo o Estatuto do Medicamento (40), o medicamento define-se *“como toda a substância ou associação de substâncias apresentada como possuindo propriedades curativas ou preventivas de doenças em seres humanos ou dos seus sintomas ou que possa ser utilizada ou administrada no ser humano com vista a estabelecer um diagnóstico médico ou, exercendo uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica, a restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas”*.

Um medicamento manipulado é designado por preparado oficial ou por fórmula magistral. Segundo a Portaria 594/2004 de 2 de junho, um preparado oficial é *“qualquer medicamento preparado segundo as indicações compendiais, de uma farmacopeia ou de um formulário, em farmácia de oficina ou nos serviços farmacêuticos hospitalares, destinado a ser dispensado diretamente aos doentes assistidos por essa farmácia ou serviço”*. Uma fórmula magistral é *“um medicamento preparado em farmácia de oficina ou nos serviços farmacêuticos hospitalares segundo receita que especifica o doente a quem o medicamento se destina”* (40).

Durante a preparação do medicamento manipulado o farmacêutico deve ter em atenção ao estado das matérias-primas e às condições de manipulação para evitar alterações que podem parecer insignificantes, mas comprometem a estabilidade da preparação. O resultado será a inutilidade da mesma e, conseqüentemente, falha terapêutica ou até o desencadear de reações adversas (41).

Segundo a USP, a estabilidade pode ser definida como a capacidade que a forma farmacêutica apresenta para manter dentro dos limites especificados e durante todo o período de armazenamento e utilização, as mesmas propriedades e características que possuía no momento do seu fabrico (41).

1.5 Tipos de estabilidade

A USP considera que existem cinco tipos de estabilidade, apresentados na Tabela I (41). Os testes de estabilidade representam uma parte importante no desenvolvimento de um novo medicamento, bem como no controlo de medicamentos comercializados. Assim, permitem avaliar de que forma a qualidade do produto se mantém ao longo do tempo, sob os diferentes fatores ambientais a que está sujeito como temperatura, luz, humidade e, ainda, determinar qual o seu prazo de validade e condições de armazenamento (42, 43).

Tabela I - Diferentes tipos de estabilidade segundo a USP (41).

Tipos de estabilidade	Definição
<i>Química</i>	Cada ingrediente ativo mantém a sua integridade química e potência rotulada dentro dos seus limites específicos.
<i>Física</i>	As propriedades físicas originais, como aparência, sabor, uniformidade, dissolução e suspensão são mantidas.
<i>Microbiológica</i>	A esterilidade e resistência ao crescimento microbiano são mantidas de acordo com os requisitos especificados. Os agentes microbianos que estão presentes mantêm a sua eficácia dentro desses limites.
<i>Terapêutica</i>	O efeito terapêutico mantém-se inalterado.
<i>Toxicológica</i>	Não ocorre aumento significativo na toxicidade.

A periodicidade com que são realizados os testes, a escolha de quais executar e a sua duração para avaliar as alterações dependem do fármaco e da forma farmacêutica a analisar. Os testes a realizar para caracterizar as alterações físicas, químicas e microbiológicas devem ser os enunciados na Tabela II (43).

Os testes de estabilidade compreendem o desenvolvimento e validação do método e o estudo propriamente dito da estabilidade (44). Normalmente é utilizada a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE, ou mais conhecido por HPLC, de *High Performance Liquid Chromatography*) por ser um método específico e eficiente, mas as titulações e os ensaios microbianos são também habituais (44).

A realização de testes de estabilidade deve ser contínua ao longo de todo o ciclo de vida do medicamento, uma vez que permite avaliar todo o processo de fabrico, mas também garantir a comercialização de um medicamento eficaz, seguro e de qualidade até à sua caducidade. No caso das substâncias propostas a um período de “reteste” sob condições de armazenamento para longo prazo, devem efetuar-se testes a cada 3 meses no primeiro ano, a cada 6 meses no segundo ano e anualmente de acordo com o “reteste” proposto. Por “reteste” entende-se o período segundo o qual o fármaco mantém as suas especificações e características sob as condições de armazenamento definidas. Decorrido este tempo deve avaliar-se novamente um lote do medicamento já em comercialização (43, 45).

Tabela II - Testes a realizar para a caracterização das alterações físicas, químicas e microbiológicas (43).

Alterações físicas	Alterações químicas	Alterações microbiológicas
Características organoléticas	Doseamento do fármaco	Ensaio de esterilidade
pH	Determinação de produtos de degradação	Doseamento de endotoxinas
Viscosidade e densidade	Doseamento de conservantes	Ensaio de eficácia de conservantes
Massa média	Determinação de produtos de degradação dos conservantes	Qualidade microbiológica de produtos não estéreis
Cor e limpidez da solução	Doseamento de antioxidantes	
Número e distribuição do tamanho de partículas		
Desagregação e/ou dissolução		
Dureza e friabilidade		
Teor em água		

Em simultâneo com os fatores anteriores, existem também diferentes reações químicas que podem levar à perda da ação do fármaco, através de mecanismos de hidrólise, oxidação, racemização, isomerização, descarboxilação, desidratação e fotodegradação (41, 42, 46).

A degradação física ocorre por meio de outros processos que interferem com propriedades físicas como o sabor, a aparência, a uniformidade, a dissolução, a suspensão das partículas, etc. (46).

O pH de uma formulação oral líquida é um aspeto importante a ter em consideração uma vez que compromete a estabilidade da formulação, a solubilidade, a tolerabilidade biológica e a atividade do fármaco. Cada substância tem um pH ideal para a sua

estabilidade máxima que pode ser alterado por reações físicas, químicas, por solventes, excipientes presentes na formulação, etc. e prejudicar a sua atividade (9, 46).

O pH da formulação afeta sobretudo o grau de ionização dos fármacos, que quando se apresentam na sua forma ionizada são mais suscetíveis de sofrer reações de degradação. A maior parte dos fármacos é estável num intervalo de pH entre os 4 e 8 (46).

Assim, ao conhecer-se a faixa de pH ideal para atuação de cada substância previne-se instabilidades e garante-se a qualidade e eficácia do medicamento (47).

O Centro Hospitalar Universitário de Pontevedra, em Espanha, realizou um estudo (47) onde determinaram o pH como um critério de qualidade na preparação de fórmulas magistrais orais líquidas, em que para o fármaco em causa neste trabalho, a fludrocortisona, se estabeleceu que o pH ideal seria de 3,17 podendo variar entre 2,83 e 3,67.

1.6 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) é uma técnica de identificação, quantificação e separação de compostos presentes numa amostra. Esta técnica baseia-se na separação dos componentes através da afinidade das moléculas com a fase móvel e a fase estacionária, ambas no estado líquido. Os componentes são transportados na fase móvel, que atravessa a fase estacionária que se encontra na coluna. A separação acontece, visto que a velocidade de migração dos componentes da amostra é diferente (48, 49).

O sistema de HPLC é composto por um reservatório que contém a fase móvel, uma bomba de alta pressão que gera a força para a fase móvel migrar, uma coluna cromatográfica onde se encontra a fase estacionária, um injetor que introduz a fase móvel na coluna e um detetor que identifica os compostos à medida que estes migram ao longo da coluna e geram o cromatograma no sistema de dados do computador ligado ao HPLC. Num cromatograma um dos aspetos mais importantes a analisar é o tempo de retenção (RT) que se define como o tempo necessário para a amostra passar pela coluna, ou seja, o tempo que decorre desde a sua injeção até à sua deteção. Este tempo varia para as diferentes substâncias, devido às suas diferentes polaridades, uma vez que a adsorção à fase estacionária será diferente. As substâncias a analisar que têm maior afinidade para a fase móvel e menor para a fase estacionária serão as primeiras a eluir e a ser detetadas (48, 50, 51).

1.7 Prazos de utilização

O prazo de validade é atribuído aos medicamentos de acordo com os resultados dos testes de estabilidade realizados. Este caracteriza-se pela data indicada no rótulo a qual se planeia que a estabilidade e conservação das características do medicamento ao longo do tempo sejam garantidas, de acordo com os testes de estabilidade realizados, recipiente e condições de armazenamento, como acontece nos medicamentos industrializados. No entanto, nos medicamentos manipulados referimo-nos a prazo de utilização, ou seja, o manipulado só deve ser utilizado durante este período, pois só assim se garante a qualidade, eficácia e segurança do medicamento manipulado (43, 52).

A todos os medicamentos manipulados é atribuído um prazo de utilização determinado por um conjunto de fatores. Depois de uma pesquisa bibliográfica acerca da estabilidade deve ter-se em conta a natureza das matérias-primas, mecanismos de degradação, material da embalagem, condições de conservação preconizadas e duração do tratamento (53).

Quando se utilizam medicamentos industrializados para preparação de medicamentos manipulados, não estéreis, não pode ser diretamente atribuído o prazo de validade do medicamento industrializado. Deve consultar-se a bibliografia existente, bem como informações disponibilizadas pelo fabricante. Na falta de informação sobre a estabilidade podem ser utilizados alguns critérios para atribuição do prazo de utilização, para determinadas preparações (53), como é o caso dos seguintes que constam no Formulário Galénico Português (FGP):

- Preparações líquidas não aquosas e preparações sólidas – se o fármaco tem origem em um medicamento industrializado, o prazo de utilização do manipulado será 25% do tempo que resta para expirar o industrializado. Nestes casos, quando ultrapassa os 6 meses deve optar-se por um prazo de utilização de 6 meses. Tal se aplica para fármacos que consistem em matérias-primas individualizadas.
- Preparações líquidas que contêm água e fármacos no estado sólido – o prazo de utilização não deve ser superior a 14 dias, devendo conservar-se no frigorífico.
- Restantes preparações – o prazo de utilização do manipulado deverá ser o correspondente à duração do tratamento, nunca excedendo os 30 dias (prazo máximo).

No caso da USP, as orientações da última versão oficial em vigor datada de 2014, são de 14 dias para formulações orais que contenham água; 30 dias para formas

farmacêuticas líquidas ou semissólidas de aplicação cutânea ou nas mucosas que contenham água e 6 meses para formulações não aquosas.

Encontra-se disponível online uma proposta de revisão do capítulo 795 da USP, ainda não oficialmente aprovada, que propõe alterações aos prazos de utilização: 14 dias para formas farmacêuticas aquosas não conservadas em frigorífico, para formas farmacêuticas aquosas conservadas no frio 35 dias, 90 dias para formas farmacêuticas não aquosas e 180 dias para formas farmacêuticas sólidas (54).

1.8 Objetivos

Os objetivos desta dissertação de mestrado são:

- Avaliar a estabilidade da suspensão oral de fludrocortisona preparada pelos serviços farmacêuticos do CHUSJ;
- Preparar/avaliar a estabilidade de suspensões orais de fludrocortisona idênticas à realizada no CHUSJ, utilizando comprimidos de fludrocortisona;
- Preparar/avaliar a estabilidade de suspensões orais de fludrocortisona idênticas à realizada no CHUSJ, utilizando fludrocortisona em pó;
- Avaliar possíveis diferenças no comportamento das suspensões utilizando um conservante diferente dos parabenos;
- Comparar os resultados obtidos entre as suspensões que contêm concentrado de parabenos e sorbato de potássio;
- Avaliar se as cinco suspensões orais em estudo mantêm a estabilidade durante 30 dias;

2 Materiais e métodos

2.1 Materiais

2.1.1 Fármaco

Foi utilizado o acetato de fludrocortisona proveniente de comprimidos de nome comercial *Cortineff*, acondicionados em frascos de cor âmbar com 20 comprimidos de 100µg, redondos de cor branca (Figura 21 em anexos). Os excipientes presentes nos comprimidos são a lactose mono-hidratada, o amido de batata, a gelatina e o estearato de magnésio. Em Portugal não é comercializado nenhum medicamento com o fármaco fludrocortisona (55, 56), sendo estes adquiridos através de pedido de importação devidamente fundamentado ao INFARMED.

O acetato de fludrocortisona em pó caracteriza-se por ser um pó branco, praticamente insolúvel em água e bastante solúvel em etanol, acondicionado em embalagem de 10 g hermeticamente fechada (Figura 22 em anexos).

Na Tabela III encontra-se o lote, prazo de validade e origem do acetato de fludrocortisona sob a forma de comprimidos e pó.

Tabela III - Informações acerca do acetato de fludrocortisona sob a forma de comprimidos e pó.

Matéria-prima	Lote	Prazo de Validade	Origem
Acetato de fludrocortisona em comprimidos	12271759	Maio de 2023	Adamed
Acetato de fludrocortisona em pó	19J22-FO6-366116	Outubro de 2022	Fagron Ibérica S.A.U (Barcelona)

2.1.2 Solvente

O álcool etílico foi escolhido como solvente para preparar todas as soluções padrão, uma vez que o fármaco em estudo é nele bastante solúvel. O álcool etílico utilizado apresenta as características descritas na Tabela IV.

Tabela IV - Informações acerca do álcool etílico.

Matéria-prima	Lote	Prazo de validade	Origem
Álcool etílico a 96% V/V puro	22/0212	Fevereiro de 2027	Fábrica do álcool - <i>Manuel Vieira e C^a (Irmão), Sucessores, Lda</i> (Torres Novas, Portugal)

2.1.3 Eluentes

Os eluentes que constituíram a fase móvel do método de doseamento por HPLC foram o acetonitrilo e a água acidificada a pH= 3.

A água purificada, obtida a partir do sistema de purificação da água presente no laboratório de tecnologia farmacêutica, é um solvente inorgânico muito polar, acidificado com ácido acético até atingir pH 3.

O acetonitrilo (57) é utilizado como solvente orgânico. É um líquido menos polar que a água, altamente volátil, com baixa absorção no ultravioleta (UV) e baixa viscosidade.

Tabela V - Informações acerca do acetonitrilo e da água acidificada a pH=3.

Reagente	Lote	Prazo de Validade	Origem
Acetonitrilo	P9I024039L	Outubro de 2023	Carlo ErbaReagents, França
Água pH=3	-	Renovada a cada semana	Produzida na FFUP no Direct-Q® Ultrapure Water Systems, MERCK Millipore (Alemanha)

2.1.4 Excipientes

Os excipientes utilizados foram os necessários para a produção do Veículo B9, utilizado pelos Serviços Farmacêuticos (SF) do CHUSJ, tal como descrito no Formulário Galénico Português. Deste modo, o lote, prazo de validade e origem de cada matéria-prima encontram-se na Tabela VI e as suas características inscritas no rótulo são as seguintes:

- Celulose microcristalina - um pó fino granuloso, branco ou quase branco, ligeiramente higroscópico, praticamente insolúvel em água, acetona, etanol anidro, tolueno, ácidos diluídos e em solução de 50 g/L de hidróxido de sódio.
- Carboximetilcelulose sódica - pó granuloso branco ou quase branco, higroscópico, praticamente insolúvel em acetona, em etanol a 96% e tolueno. Dispersa-se facilmente em água, originando soluções coloidais.

- Goma Xantana – pó branco ou branco-amarelado, solúvel em água formando uma solução muito viscosa, praticamente insolúvel em solventes orgânicos.
- Metilparabeno – também denominado de p-hidroxibenzoato de metilo ou genericamente como Nipagin, foi utilizado para produzir o Concentrado de Parabenos. Caracterizado como um pó branco cristalino ou quase branco ou de cristais incolores, pouco solúvel em água e facilmente solúvel em etanol e metanol.
- Propilparabeno – também denominado de p-hidroxibenzoato de propilo, ou genericamente como Nipasol, foi utilizado para produzir o Concentrado de Parabenos. Caracterizado como um pó cristalino branco, pouquíssimo solúvel em água, facilmente solúvel em etanol e metanol.
- Propilenoglicol – também utilizado para produzir o Concentrado de Parabenos, caracteriza-se como um líquido viscoso, límpido, incolor e higroscópico. É miscível com água e etanol a 96%. Apesar de bem tolerado, foram descritos alguns efeitos adversos quando administrado em tratamentos prolongados ou doses bastante elevadas, sendo eles a disfunção renal, acidose láctica, cardiotoxicidade, depressão respiratória, disfunção hepática, entre outros. Foi ainda demonstrada a preocupação com o acúmulo de propilenoglicol, com as sucessivas administrações, uma vez que os parâmetros farmacocinéticos variam bastante nos neonatos em relação aos adultos. Enquanto nos adultos esta substância apresenta uma semivida de 1,4 a 3,3 horas, nos bebés é de aproximadamente 19,3 horas. Assim, foi estabelecido que a dose considerada segura para administração por longos períodos é de 500 mg/kg/dia a partir dos 5 anos de idade; 50 mg/kg para crianças entre 1 e os 5 anos de idade; para neonatos, prematuros ou a termo, estabeleceu-se a dose de 1 mg/kg (58, 59). A associação com outras substâncias, como o etanol, pode também aumentar a toxicidade do propilenoglicol e desencadear a ocorrência de efeitos adversos a nível do sistema nervoso central, principalmente nos neonatos que apresentam o sistema renal, hepático e metabólico em desenvolvimento (58).
- Essência de banana para uso oral – líquido oleoso, límpido, incolor ou ligeiramente amarelado com odor característico de banana intenso.
- Sacarina – pó cristalino, branco ou quase branco ou de cristais incolores, fluorescentes ao ar seco. Facilmente solúvel em água e bastante solúvel em etanol a 96%.
- Sorbato de potássio – utilizado no veículo adaptado do B9 em substituição do concentrado de parabenos como forma de testar um veículo alternativo.

Caracterizado por ser um pó ou grânulos brancos ou quase brancos, muito solúvel em água e alguma solubilidade em etanol a 96%.

- Polissorbato 20 – também denominado de Tween 20, caracteriza-se por um líquido oleoso amarelo ou amarelo-acastanhado, límpido ou ligeiramente opalescente. É solúvel em água, etanol anidro, acetato de etilo e metanol, sendo praticamente insolúvel em óleos e parafina líquida.

Tabela VI - Informações acerca das matérias-primas.

Matéria-prima	Lote	Prazo de validade	Origem
Celulose microcristalina	214607	Setembro de 2023	Acofarma (Madrid, Espanha)
Carboximetilcelulose	200872	Novembro de 2022	
Goma Xantana	200511	Fevereiro de 2023	
Metilparabeno	214929	Maio de 2023	
Propilparabeno	201147	Março de 2023	
Propilenoglicol	201483	Setembro de 2022	
Sacarina sódica	190978	Julho de 2023	
Essência de banana	213325	Junho de 2023	
Sorbato de potássio	213973	Abril de 2024	
Polissorbato 20	210265	Outubro de 2022	

2.2 Métodos

2.2.1 Método de doseamento da fludrocortisona

Para o método de doseamento da fludrocortisona começou-se por analisar uma amostra padrão de fludrocortisona, em *couvert* de quartzo de 10 mm, no espectrofotómetro Jasco V-650, com leituras compreendidas entre os 200 nm e 400 nm do espectro UV, para encontrar os comprimentos de onda em que o fármaco absorve. Posto isto, os comprimentos de onda definidos foram 218 nm, 226 nm, 270 nm, 285 nm do espectro UV.

Posteriormente, para definir a curva de calibração e quantificar o fármaco recorreu-se ao método de HPLC. O equipamento utilizado foi o HPLC Dionex UltiMate 3000 da

ThermoScientific, a coluna cromatográfica C18 5 µm 120 Å 4.6 x 100 mm Acclaim™ 120 também da ThermoScientific e com o programa informático associado Chromeleon 7. Tratou-se todos os dados obtidos em folha de cálculo MS Excel® onde se realizou a análise, cálculos e gráficos necessários.

Nestes dados inclui-se a simetria do pico que se relaciona com a forma do mesmo, o número de pratos teóricos que traduz a capacidade da coluna para separar os componentes da amostra. E o fator K' (fator de retenção ou de capacidade) utilizado para identificar o pico cromatográfico que é expresso pela seguinte Equação (60):

$$K' = \frac{(t_R - t_0)}{t_0}$$

Equação 3 - Cálculo do fator de retenção.

onde t_R é o tempo de retenção do analito e t_0 é o tempo decorrido desde a injeção até à eluição do pico do analito.

O intervalo de valores para a simetria do pico situa-se entre 0,8 – 1,5, sendo que a partir de julho de 2022 será publicada na 11ª edição da Ph. Eur. a alteração deste intervalo para 0,8 – 1,8. O valor de k deverá ser superior a 2 e o número de pratos teóricos, ainda que dependente do tempo de eluição, deverá ser superior a 2000 (60, 61).

Acerca da validação do método teve-se em consideração os seguintes critérios de aceitação, descritos na “*Note for Guidance on validation of analytical procedures: text and methodology*”, da EMA (62):

- Linearidade – capacidade de obter resultados diretamente proporcionais à concentração presente na amostra. Para estabelecer a linearidade são recomendadas no mínimo 5 concentrações e a partir deste parâmetro estabelece-se o coeficiente de correlação (R), interceção, linha de regressão linear e a soma dos quadrados dos resíduos. O valor de R deve ser próximo de 1 ou pelo menos de 0,98 como determinam alguns autores (63).
- Precisão - expressa a proximidade dos valores de uma medição nas mesmas condições. É representada através da repetibilidade (várias medições nas melhores e mesmas condições, num mínimo de 9 repetições – 3 concentrações x 3 réplicas); precisão intermédia (estudos com uma condição de análise distinta, por exemplo, diferentes equipamentos, ou operadores, ou dias, etc.); reprodutibilidade (medida entre laboratórios e estudos de colaboração).

- Exatidão – expressa a proximidade do valor experimental ao valor de referência tido como real.
- Limite de detecção – refere-se à menor quantidade de analito necessária para ser detetado na amostra; pode ser determinado com base no erro-padrão da ordenada na origem e declive da curva de calibração, e é expresso pela seguinte Equação:

$$LD = \frac{3,3\sigma}{S}$$

Equação 4 - Limite de detecção.

onde σ é o erro padrão da resposta e S é a inclinação da curva de calibração.

- Limite de quantificação – menor quantidade de analito que pode ser quantificado com precisão e exatidão adequadas. Pode ser determinado de modo semelhante ao limite de detecção:

$$LQ = \frac{10\sigma}{S}$$

Equação 5 - Limite de quantificação.

- Seletividade – capacidade de detetar a substância em causa na presença de outros componentes, como impurezas.
- Amplitude - Intervalo entre a menor e maior concentração de analito na amostra. No doseamento, para uma substância ativa o intervalo de amplitude deve estar no mínimo compreendido entre os 80% e 120% de concentração esperada.

Para definição do método analítico começou-se por testar diferentes percentagens para os eluentes, como descrito na Tabela VII.

Tabela VII - Diferentes percentagens testadas para os eluentes utilizados.

Acetonitrilo	Água a pH=3
30%	70%
40%	60%
50%	50%
60%	40%
70%	30%
80%	20%
90%	10%

Depois de se testarem diferentes concentrações para os eluentes escolhidos, e também através de pesquisa em diversos artigos que abordam a mesma técnica para o fármaco em causa, foram definidas as condições enunciadas na Tabela VIII.

Tabela VIII - Condições para realização das análises em HPLC.

Composição do eluente	Acetonitrilo	45%
	Água a pH=3	55%
Tempo de corrida	5 min	
Pressão	170 bar aproximadamente	
Volume de injeção	10 µl	

2.2.2 Preparação do veículo B9 e do veículo com conservante alternativo

Preparou-se 1L de veículo B9, tendo-se como referência a ficha de preparação do “Veículo para Preparação de Suspensões Orais, isento de açúcar (FGP B.9.)” presente no Formulário Galénico Português. A técnica de preparação do Concentrado de Parabenos foi também apoiada na ficha de preparação que consta no Formulário Galénico Português “Concentrado de Parabenos (FGP B.8.)”, bem como, a preparação do polissorbato 20 a 0,1% e a essência de banana a 10% (FGP B.9.) (53).

Desta forma, o procedimento adotado foi o seguinte:

1. Aquecer água purificada a 80°C num *gobelet* de vidro com capacidade de 1000 ml.
2. Pesar as matérias-primas.
3. Preparar 100 ml de solução aquosa de polissorbato 20 a 0,1% (m/v).
 - 3.1. Transferir os 0,1 ml de polissorbato, previamente pesados, para proveta rolhada;
 - 3.2. Lavar o vidro de relógio, utilizado para a pesagem, com água purificada.
 - 3.3. Adicionar cerca de 50 ml de água purificada e agitar, lentamente, até completa dissolução do polissorbato 20.
 - 3.4. Perfazer o volume com água.
 - 3.5. Agitar lentamente até obter uma solução límpida.
4. Preparar 100 ml de solução aquosa de essência de banana a 10% (m/v).
 - 4.1. Transferir os 10 ml de essência de banana, previamente pesados, para proveta rolhada.
 - 4.2. Lavar o vidro de relógio, utilizado para a pesagem, com água purificada.
 - 4.3. Adicionar 50 ml de água purificada e agitar até obter uma solução coloidal com aspeto homogéneo.
 - 4.4. Perfazer o volume com água purificada.
 - 4.5. Agitar até obter uma solução coloidal com aspeto homogéneo.
5. Preparar 100 ml de Concentrado de Parabenos ou 100 ml de solução de sorbato de potássio a 0,2%, consoante preparação de veículo B9 ou veículo com conservante alternativo.
 - 5.1. Para o Concentrado de parabenos: pesar o propilenoglicol em *gobelet* e aquecer em placa de aquecimento à temperatura de 70-75° C.
 - 5.2. Adicionar o metilparabeno e o propilparabeno ao *gobelet* anterior e agitar com magnete até completa dissolução.
 - 5.3. Retirar o *gobelet* da placa e deixar arrefecer agitando periodicamente.
6. Pesar a quantidade de água necessária, previamente aquecida, num *gobelet* de plástico com capacidade para 1000 ml.
7. Colocar o *gobelet* anterior no agitador em hélice e aumentar a velocidade gradualmente.
8. Adicionar as matérias-primas por ordem e aos poucos começando pela celulose, carboximetilcelulose, goma xantana, sacarina sódica, polissorbato 20 a 0,1% (m/v) e a essência de banana a 10%.
9. Agitar até que a solução coloidal apresente um aspeto homogéneo.

O veículo foi dividido por 4 frascos de vidro âmbar de 100 ml sendo que a 2 deles foi adicionado o conservante Concentrado de Parabenos e aos restantes o conservante

sorbato de potássio. A quantidade restante foi acondicionada em frasco de vidro e os 4 frascos de vidro âmbar armazenados no frigorífico.

Por indicação do *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (24), o polissorbato 20 e o sorbato de potássio, apresentam incompatibilidades quando usados em simultâneo, uma vez que o sorbato de potássio perde alguma atividade antimicrobiana na presença de tensioativos não iónicos. Apesar das incompatibilidades referidas quanto ao conservante e tensioativo optou-se por manter o polissorbato no veículo B9 (apenas substituir o sorbato de potássio pelos parabenos pois é um dos objetivos do trabalho), utilizando-se a concentração máxima de conservante (0,2%).

Para a preparação do veículo B9 utilizou-se um *gobelet* de grande capacidade e o agitador em hélice, em vez de almofariz de porcelana, visto que a quantidade total de veículo era elevada. Agitou-se durante 20 min, na velocidade 7 e a 958 rpm.

Na Tabela IX estão especificadas as quantidades calculadas e pesadas para as respetivas matérias-primas que constituem o veículo B9.

Tabela IX - Quantidade para cada uma das matérias-primas.

Matéria-prima	Quantidade para 100 ml	Quantidade para 1000 ml	Quantidade pesada
Celulose microcristalina	0,45 g (89:11)	4g	4,0098 g
Carboximetilcelulose sódica		0,4950 g	0,4957 g
Goma Xantana	0,10 g	1 g	1,0018 g
Sacarina sódica	0,20 g	2 g	2,0015 g
Solução aquosa de polissorbato 20 a 0,1% (m/v)	5,0 ml	50 ml	50 ml
Solução aquosa de essência de banana a 10% (m/v)	1,0 ml	10 ml	10 ml
Concentrado de Parabenos	1 g	-	1g
Água purificada	q.b.p. 100 ml	q.b.p. 1000 ml	q.b.p.1000 ml

Tabela X - Quantidade de sorbato de potássio, que não faz parte da fórmula original de Veículo B9.

Matéria-prima	Quantidade para 100 ml	Quantidade pesada
Sorbato de potássio a 0,2%*	0,2 g	0,2 g

(*segundo o Handbook of Excipients)

Para preparar o sorbato de potássio a 0,2% realizou-se o seguinte procedimento:

1. Colocar a quantidade pesada em proveta rolhada de 100 ml;
2. Adicionar água purificada;
3. Agitar até obter uma solução límpida;
4. Perfazer o volume com água purificada e agitar novamente;
5. Acondicionar em frasco de vidro âmbar.

Tabela XI - Matérias-primas necessárias à preparação do Concentrado de Parabenos.

Matéria-prima	Quantidade para 100 ml	Quantidade pesada
Metilparabeno	7,0 g	7,0043 g
Propilparabeno	3,0 g	3,0003 g
Propilenoglicol	94,4 g	94,4002 g

2.2.3 Soluções padrão

2.2.3.1 Soluções padrão para cada matéria-prima

Para todas as matérias-primas constituintes do veículo B9 foram também realizadas soluções padrão e injetadas no HPLC, para se obter o seu respetivo pico e tempo de retenção para detetar possíveis interações com o fármaco.

Partindo das quantidades descritas para o Veículo B9, pesou-se metade dessa quantidade para 50 ml de água. De seguida, realizou-se uma diluição de 1:10 para balão volumétrico e perfez-se a solução com etanol.

Filtrou-se 1,5 ml de cada uma das soluções para o respetivo vial, na respetiva posição do HPLC e injetada em triplicado. Ao longo de todo o trabalho foram utilizados filtros de seringa não estéreis de tamanho de poro 0,45 µm e 25 mm de diâmetro.

2.2.3.2 Soluções padrão de fludrocortisona em pó

As soluções padrão referentes ao fármaco permitiram identificar o tempo de retenção do mesmo e avaliar a área do pico formado, como forma de obter a curva de calibração. Para isso, realizaram-se padrões a 70%, 80%, 90%, 100%, 110% e 120% em relação à concentração alvo a atingir.

Num balão volumétrico de 100 ml transferiu-se a quantidade pesada (Tabela XII) de cada padrão de fludrocortisona em pó. Perfez-se com etanol. Desta solução, fez-se uma diluição de 1:10 com micropipeta para balão volumétrico e perfez-se o volume com etanol. Filtrou-se e colocou-se em vial para injetar em triplicado.

Tabela XII - Quantidades pesadas para realizar os padrões de fludrocortisona.

Padrão	Quantidade a pesar	Quantidade pesada
70%	70 mg	70,00 mg
80%	80 mg	80,20 mg
90%	90 mg	90,00 mg
100%	100 mg	100,20 mg
110%	110 mg	110,00 mg
120%	120 mg	120,00 mg

2.2.3.3 Soluções padrão de veículo B9 com comprimidos de fludrocortisona

Para preparar estes padrões pulverizaram-se 25 comprimidos de fludrocortisona em almofariz de porcelana. De seguida, diluiu-se em balão volumétrico de 25 ml com o veículo B9 contendo parabenos e perfez-se o volume com o mesmo solvente. Fez-se o mesmo procedimento, mas com veículo alternativo contendo sorbato de potássio.

Acondicionou-se cada uma das suspensões em frasco de vidro âmbar, armazenadas no frigorífico a uma temperatura entre os 2 e 8°C. Destas suspensões retirou-se 2 ml, com auxílio de uma micropipeta, para 2 novos balões volumétricos de 20 ml e perfez-se o volume com etanol. Levou-se os balões à agitação em banho ultrassónico (*Sonorex Bandelin*) durante 3 min. Por fim, filtrou-se 1,5 ml de cada suspensão para o respetivo vial e injetou-se em triplicado no HPLC.

2.2.3.4 Soluções padrão de veículo B9 com fludrocortisona em pó

Para preparar estes padrões pesaram-se 10 mg de pó de fludrocortisona em balança analítica. De seguida, diluiu-se em balão volumétrico de 25 ml com o veículo B9 contendo parabenos e fez-se o volume. Fez-se o mesmo procedimento, mas com veículo alternativo contendo sorbato de potássio.

O resto da preparação foi feita do modo referido anteriormente para as soluções padrão de veículo B9 contendo comprimidos de fludrocortisona (2.2.3.3).

2.2.4 Reologia

Para avaliar a reologia utilizou-se o reómetro rotacional *KinexusLab+* da Malvern e recorreu-se ao programa informático associado *rSpace for Kinexus*. Posteriormente transferiram-se os dados obtidos por este para uma folha de cálculo Ms Excel® e obteve-se os gráficos para análise do comportamento reológico de cada uma das seguintes amostras:

- Suspensão oral de comprimidos de fludrocortisona em veículo B9 com parabenos - CVP;
- Suspensão oral de comprimidos de fludrocortisona em veículo alternativo com sorbato de potássio - CVS;
- Suspensão oral de pó de fludrocortisona em veículo B9 com parabenos - PVP;
- Suspensão oral de pó de fludrocortisona em veículo alternativo com sorbato de potássio - PVS;
- Suspensão oral de fludrocortisona preparada pelos SF do CHUSJ - SSJ.

Em todos os testes foi utilizada a geometria cone-prato. Realizou-se um ensaio para cada suspensão, durante 25 dias, sendo a leitura realizada 1 vez por semana, com a duração de 25 minutos, sendo que os 5 minutos iniciais são para estabilização da temperatura a 25°C.

O teste utilizado para avaliar a tixotropia foi um teste rotacional destrutivo V002 - *Three Shear Rate*, nas condições que se apresentam na Tabela XIII.

Tabela XIII - Condições para realização do teste V002 – Three Shear Rate.

	1ª fase	2ª fase	3ª fase
Taxa de corte (s ⁻¹)	0,100	100	0,100
Tempo (s)	60	30	1200
Intervalo (s)	5	5	5

Para testar a viscosidade utilizou-se o teste destrutivo V001 - *Shear Rate Ramp*, nas condições que se apresentam na Tabela XIV.

Tabela XIV - Condições para realização do teste V001 - Shear Rate Ramp.

Taxa de corte inicial (s^{-1})	0,100
Taxa de corte final (s^{-1})	100
Amostras por década ¹	10

2.2.5 Tamanho das partículas

O tamanho das partículas foi avaliado no difratómetro laser *Mastersizer 3000 – Hydro EV* da Malvern Panalytical, com recurso ao *software* associado. Cada amostra foi adicionada gradualmente ao dispersante (água), até atingir a obscuração definida entre os limites de 5 a 10%, nas seguintes condições: índice de refração de 1,1, índice de absorção de 0,01, usando a teoria de Mie da dispersão de luz.

Analisou-se o percentil 10, 50 e 90 (Dv10, Dv50 e Dv90) de todas as amostras referidas anteriormente. Para cada uma delas obteve-se 5 leituras e transferiu-se os dados para uma folha de cálculo Ms Excel® para posterior análise dos dados. O ensaio foi realizado durante 28 dias.

2.2.6 Determinação do pH

O pH das 5 suspensões foi determinado no potenciómetro *HI 2211pH/ORP Meter* da *HANNA Instruments*. Antes de cada medição lavou-se o eléctrodo com água e, de seguida, mergulhou-se em cada suspensão para se proceder à leitura e registo dos valores. É de salientar que todas as suspensões se encontravam armazenadas no frigorífico a temperatura entre os 2º C e 8º C.

Efetuaram-se 3 leituras em cada suspensão para obtenção da média. O ensaio foi realizado durante 31 dias, sendo a leitura realizada duas vezes por semana.

¹Uma década logarítmica, corresponde a uma variação de uma unidade de potência de 10 no valor numérico da grandeza.

2.2.7 Sedimentação

A sedimentação das partículas foi avaliada utilizando provetas de 10 ml. Começou-se por colocar 10 ml de cada amostra numa proveta rolhada, agitar a suspensão e por observação direta avaliou-se a altura de sedimento formado contido na proveta.

O volume de sedimentação é a razão entre a altura de sedimento (H_s) e a altura inicial (H_0) (Equação 6). Quanto maior o valor da razão, mais próximo de 1, melhor a redispersibilidade da suspensão (64).

$$V_s = \frac{H_s}{H_0}$$

Equação 6 – Cálculo do volume de sedimentação.

A avaliação do volume de sedimentação foi realizada passado 1h e duas vezes por semana durante 31 dias, ficando todas as suspensões em repouso para que o sedimento se deposite ao longo do tempo de estudo.

3 Resultados e discussão

3.1 Estabilidade química

3.1.1 Espectro UV

Os comprimentos de onda, 218 nm, 226 nm, 270 nm e 285 nm, foram escolhidos com base nos dados obtidos em espectrofotómetro, representados na Figura 6.

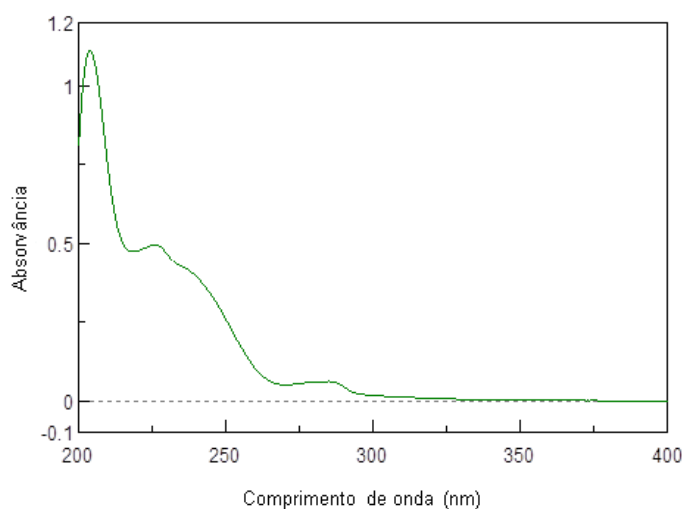


Figura 6 - Espectro UV da fludrocortisona.

3.1.2 Simetria do pico, número de pratos teóricos e fator k

A percentagem de eluentes escolhida para o método de doseamento da fludrocortisona por HPLC foi 45:55 (acetonitrilo e água a pH=3 respetivamente) pelos resultados obtidos para a simetria de pico, número de pratos teóricos e fator de retenção (K'), que podem ser vistos nos gráficos presentes nos anexos (Anexo 6.5.).

Quanto ao número de pratos teóricos o valor para esta percentagem de eluentes é de 4200, por isso superior a 2000 pratos, a assimetria do pico é de 1,4 apresentando-se dentro do intervalo aceitável e o fator K' verifica-se superior a 2 o que assegura a correta identificação e doseamento da substância em estudo.

3.1.3 Curva de calibração

Partindo da Ficha de Preparação fornecida pelos SF do CHUSJ (Figura 32 em anexos), calculou-se a concentração pretendida dos padrões realizados, para que esta fosse equivalente ao preparado pelo Hospital, e as análises se realizassem na mesma ordem de grandeza:

2,5 mg/25 ml = 0,1 mg/ml - Concentração do padrão 100% de fludrocortisona.

Os critérios de aceitação foram definidos para uma concentração superior a 70% e inferior a 120% da concentração prevista (0,1 mg/ml). Assim a curva de calibração (Figura 7) é constituída pelos seis pontos que representam os padrões efetuados para a sua caracterização.

Tabela XV - Dados acerca dos padrões para realização da curva de calibração.

Peso (mg)	Conc. sol. real (µg/ml)	Média das áreas	Desvio padrão	Coeficiente de variação
70,00	0,700	1,2448	0,025	2,03%
80,20	0,802	1,4978	0,061	4,05%
90,00	0,900	1,6787	0,064	3,83%
100,20	1,002	1,9000	0,038	2,02%
110,00	1,100	1,9797	0,039	1,98%
120,00	1,200	2,2476	0,069	3,07%

Tabela XVI - Valores referentes à curva de calibração.

K	B	R	R ²
0,1912	-0,059	0,994	0,987

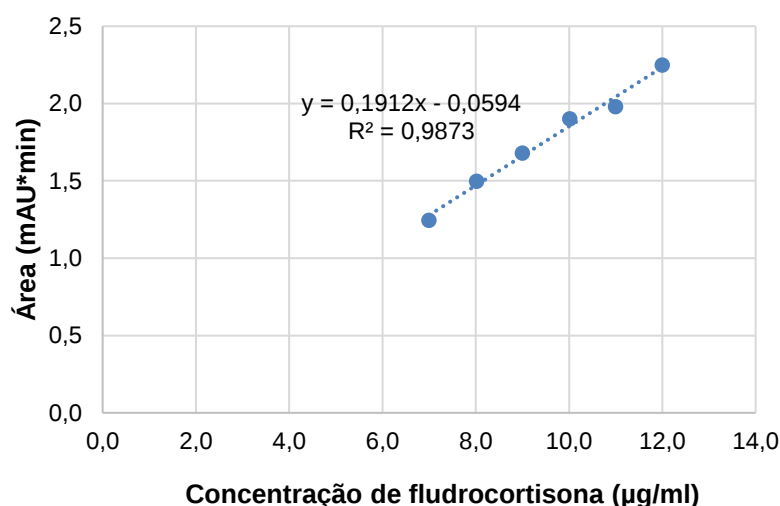


Figura 7 - Curva de calibração da fludrocortisona.

Para demonstrar a validade do método, avaliaram-se os seguintes critérios de aceitação.

3.1.3.1 Linearidade

O método mostrou ser linear, uma vez que foram utilizadas 6 concentrações e todas integram bem a curva de calibração, obtida a partir da equação $y = kx + b$, onde $k = 0,1912$, $b = -0,059$ ($y = 0,1912x - 0,0594$), com $R = 0,994$ (coeficiente de correlação muito próximo de 1), e com $R^2 = 0,987$.

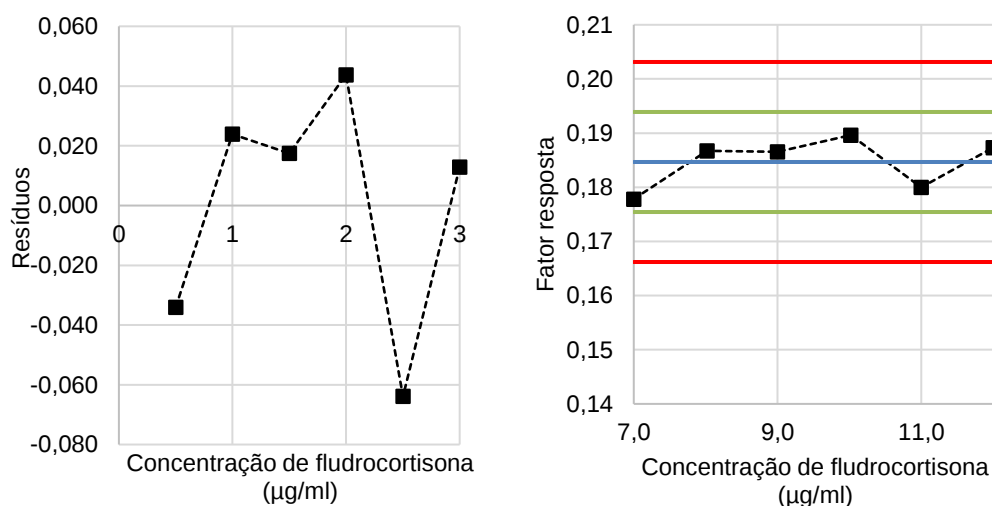


Figura 8 - Gráfico dos resíduos, à esquerda, e gráfico para o teste Rikilt, à direita.

Analisando a Figura 8, os resíduos apresentam um valor absoluto baixo com uma distribuição aleatória, sem qualquer tendência visível. O teste de Rikilt também exprime a linearidade do método em que os resultados para o fator resposta encontram-se sempre próximos da linha central (linha azul) e nunca ultrapassam o desvio absoluto de 5%,

representado pelas linhas verdes. Verifica-se que todos os pontos da curva se encontram entre os 95% e os 105%, sendo que 5% é o valor de desvio considerado aceitável. Confirma-se, assim, a linearidade e ajuste do método.

3.1.3.2 *Precisão*

Neste estudo, a precisão é expressa através da repetibilidade na medida em que as seis soluções padrão foram injetadas em triplicado, no mesmo laboratório, nas mesmas condições cromatográficas, ambientais e pelo mesmo operador. O valor do coeficiente de variação de cada uma das soluções é baixo situando-se entre 1,98% e 4,05% (abaixo dos 5% para todas as concentrações testadas).

3.1.3.3 *Exatidão*

A concentração a ter em conta é de 0,1 mg/ml, correspondente ao padrão 100% de fludrocortisona. De acordo com os dados apresentados nas Tabelas XVII a XXI, os valores referentes à recuperação da substância ativa demonstram a exatidão do método uma vez que apenas variam entre 86,30% e 118,26%, valores próximos de 100%.

3.1.3.4 *Limite de deteção*

Calculado através da equação referida anteriormente, o valor do limite de deteção é de 0,1806 µg/ml, ou seja, a concentração mínima para o fármaco em estudo ser detetado.

3.1.3.5 *Limite de quantificação*

Calculado através da equação referida anteriormente, o valor do limite de quantificação é de 0,5474 µg/ml, o que significa que o fármaco em estudo é quantificado corretamente, uma vez que o primeiro ponto da curva de calibração aparece a partir da concentração de 6 µg/ml.

3.1.3.6 *Seletividade*

Através do método de cromatografia líquida de alta eficiência foi possível identificar a substância ativa, com um pico bem definido, sem interferência de impurezas ou outras substâncias, tal como se verifica nos cromatogramas das Figuras 9, 11 e 12.

3.1.3.7 *Amplitude*

Os seis pontos que integram a curva de calibração referem-se ao intervalo compreendido entre a menor e maior concentração de analito, ou seja, o intervalo entre o padrão 70% e 120%.

3.1.4 Doseamento

A Figura 9 representa o cromatograma do doseamento de cada uma das matérias-primas presentes no veículo B9, bem como do fármaco em causa, todos eles analisados isoladamente. Verificou-se que nenhum excipiente interfere entre si durante o tempo de corrida estipulado e que também não interferem com a fludrocortisona, que apresenta um tempo de retenção por volta dos 2,60 min, distinto das matérias-primas anteriores, como se pode verificar pelos picos formados, provando-se assim a não interferência com as outras substâncias presentes nas suspensões em estudo. Os resultados escolhidos referem-se ao comprimento de onda 226 nm.

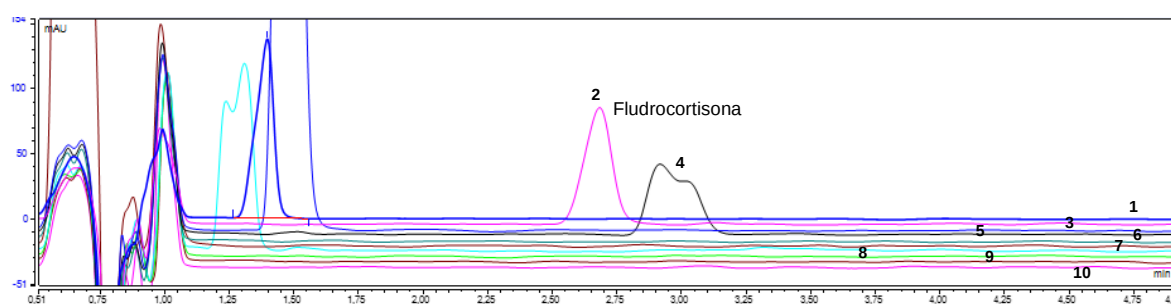


Figura 9 - Cromatogramas das matérias-primas presentes no veículo B9, do sorbato de potássio e da fludrocortisona. Legenda referente aos algarismos: 1 - Sorbato de potássio; 2 - Padrão de fludrocortisona; 3 - Polissorbato 20; 4 – Propilparabeno; 5 – Metilparabeno; 6 - Celulose microcristalina; 7 - Essência de banana; 8 - Carboximetilcelulose Sódica; 9 - Sacarina; 10 - Goma Xantana.

Na Figura 10, encontra-se representado o cromatograma do veículo B9 com comprimidos de fludrocortisona (em cima) e o veículo B9 com fludrocortisona em pó (em baixo) adicionado à sua formulação. Em ambas as amostras, o veículo B9 não apresentava qualquer conservante, visto que o objetivo era apenas identificar o fármaco no veículo, confirmar que o tempo de retenção – 2,613 min para a formulação com comprimidos e 2,620 min para a formulação com pó, o que corresponde ao verificado na imagem anterior para o padrão de fludrocortisona. Também não se verificaram interferências nem sobreposição de picos de outras substâncias, sendo fácil de identificar a fludrocortisona em ambas as análises.

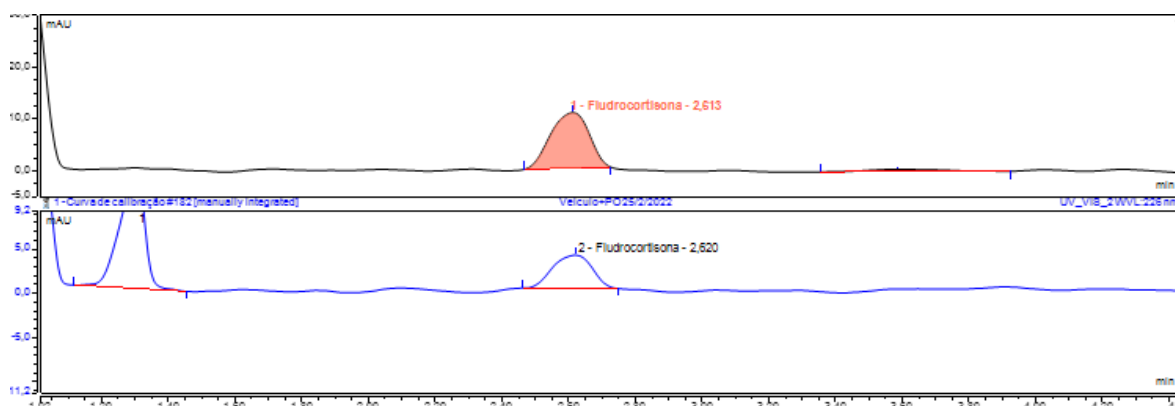


Figura 10 - Cromatogramas do veículo B9 com comprimidos de fludrocortisona (em cima) e do veículo B9 com fludrocortisona em pó (em baixo).

Quanto ao doseamento das cinco suspensões orais em estudo, nas Figuras 11 e 12 representam-se os respetivos cromatogramas no início do estudo, tempo zero, e no final passados 31 dias.

No tempo zero, tal como se verifica nas Tabelas XVII a XXI, o tempo de retenção da fludrocortisona confirma-se ser muito semelhante para as cinco suspensões e correspondente aos dados anteriormente discutidos. Para a suspensão oral de fludrocortisona em comprimidos em veículo B9 com parabenos o tempo de retenção situa-se nos 2,56 min; para a suspensão oral de fludrocortisona em comprimidos em veículo alternativo com sorbato de potássio situa-se nos 2,63 min; para a suspensão oral de fludrocortisona em pó em veículo B9 com parabenos é de 2,52 min; a suspensão oral de fludrocortisona em pó em veículo alternativo com sorbato de potássio apresenta o tempo de retenção nos 2,63 min e a suspensão preparada pelo CHUSJ aos 2,57 min.

Ao final de 31 dias de análise, os valores para o tempo de retenção apresentam-se muito idênticos, sendo aproximadamente de 2,61 min para as cinco suspensões.

Quanto ao pico formado pelo fármaco, para cada suspensão, pode caracterizar-se a sua área como pequena uma vez que se situa entre 1,84 mAU.min e 2,17 mAU.min no primeiro dia de análise. No último dia de estudo, mantém-se dentro dos mesmos valores, entre os 1,72 mAU.min e os 2,05 mAU.min.

É de realçar que em todos os cromatogramas correspondentes à CVP, PVP e à SSJ aparece um segundo pico que não se verifica nas suspensões com sorbato de potássio como conservante. Desta forma, pode afirmar-se que se trata dos parabenos, mais concretamente o propilparabeno, uma vez que o pico não aparece nas restantes suspensões e, na Figura 9, o pico formado por este surge num tempo de retenção semelhante.

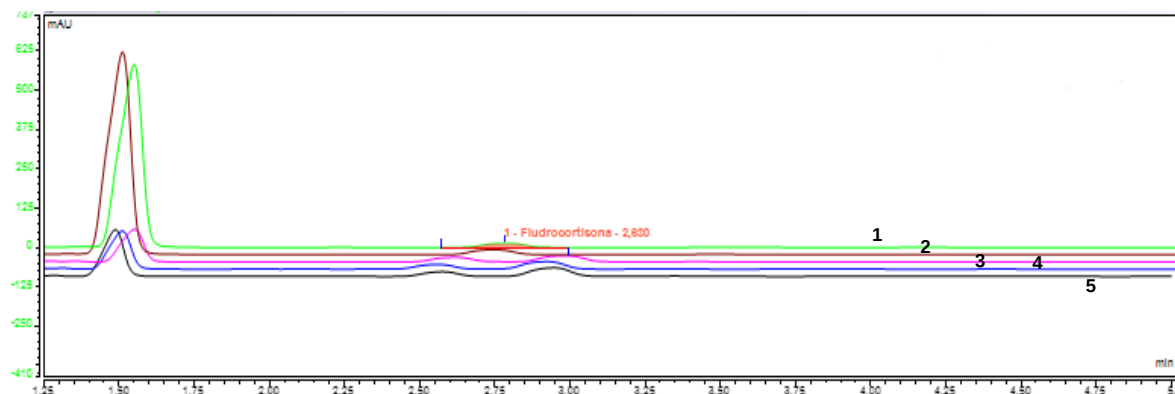


Figura 11 - Cromatogramas das cinco suspensões orais em estudo no tempo zero.
Legenda dos algarismos: 1 - CVS; 2 – PVS; 3 – SSJ; 4 - PVP; 5 – CVP.

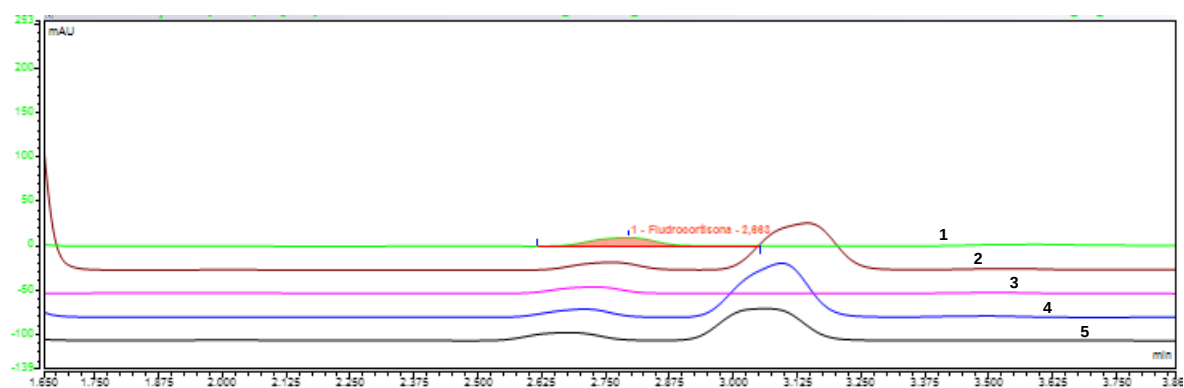


Figura 12 - Cromatogramas das cinco suspensões orais em estudo passados 31 dias.
Legenda dos algarismos: 1 – PVS; 2 – PVP; 3 - CVS; 4 – CVP; 5 – SSJ.

Assim, pelas Figuras obtidas e pelos resultados descritos pode afirmar-se que as suspensões se mantêm estáveis ao longo do período de estudo.

No tempo 0, a CVP apresenta a menor concentração (93,23 µg/ml) e a PVS a maior concentração de fármaco (116,86 µg/ml).

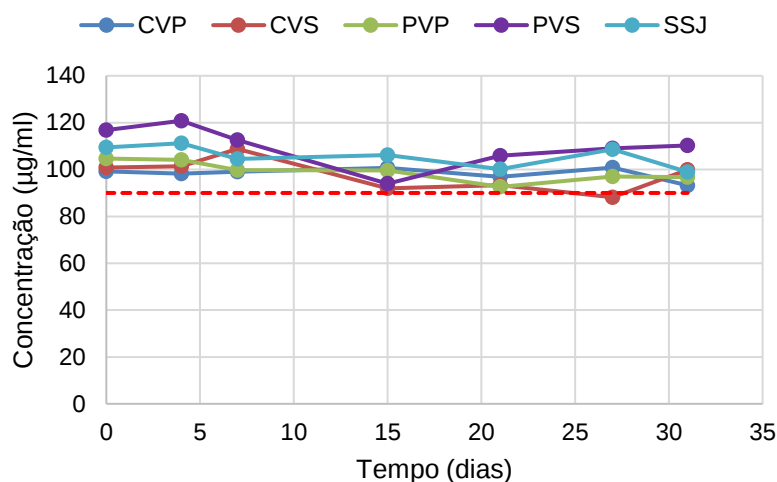


Figura 13 - Gráfico referente às concentrações de fármaco ao longo dos 31 dias de estudo.

O estudo de regressão linear permitiu, também, perceber se existia uma relação entre a concentração e o tempo de ensaio decorrido, de acordo com o valor de p (probabilidade de significância) para o nível de significância considerado de 0,05. Assim, para $p \leq 0,05$ aceita-se a hipótese alternativa (a concentração varia com o tempo) e para $p > 0,05$ aceita-se a hipótese nula (a concentração não varia com o tempo).

Ao longo dos 31 dias, para a CVP a concentração varia de 93,23 µg/ml a 100,64 µg/ml e a percentagem de recuperação do fármaco encontra-se muito próxima dos 100%, sendo o menor valor o de 91,28%, no último dia de análise, e o mais alto 98,70% (Tabela XVII em anexos). Como o valor de $p = 0,346$ podemos afirmar que não existe qualquer relação entre a concentração e o tempo de ensaio.

No caso da CVS, a concentração varia de 88,15 µg/ml a 108,78 µg/ml e a percentagem de recuperação do fármaco ao longo dos 31 dias encontra-se entre 86,30% e 106,50% (Tabela XVIII em anexos). Verifica-se novamente que a concentração não varia com o decorrer do tempo ($p = 0,187$).

Para a PVP a concentração varia de 92,59 µg/ml a 104,67 µg/ml e a percentagem de recuperação do fármaco ao longo do estudo encontra-se entre os 90,64% e 102,47% (Tabela XIX em anexos). Esta suspensão é a que apresenta um maior valor para o R^2 (0,659) e de acordo com o valor de p (de 0,027) a variação da concentração é dependente do tempo, mas sem nunca ultrapassar o valor limite de 90%.

Em relação à PVS a concentração varia de 93,96 µg/ml a 120,80 µg/ml e a percentagem de recuperação de fármaco ao longo dos 31 dias encontra-se entre 91,99%

e 118,26% (Tabela XX em anexos). Verifica-se assim que a concentração não varia com o decorrer do tempo ($p = 0,314$).

Por fim, para a SSJ a concentração varia de 98,96 $\mu\text{g/ml}$ a 111,21 $\mu\text{g/ml}$ e a percentagem de recuperação de fármaco ao longo do estudo encontra-se muito próxima dos 100%, sendo o menor valor de 96,88%, no último dia de análise, e o mais alto 108,88% (Tabela XXI em anexos). Nesta suspensão verifica-se, também, que não há relação entre a concentração e o tempo ($p = 0,120$).

Perante a análise dos resultados obtidos no doseamento, a utilização de fludrocortisona em comprimidos ou em pó não demonstra diferenças significativas, uma vez que a variação da concentração não está genericamente relacionada com o decorrer do tempo para o período de 31 dias. Apenas se verifica esta relação para a PVP, contudo a estabilidade desta não é afetada uma vez que todas as concentrações se mantêm superiores a 90%, ou seja, dentro das especificações. A USP determina (65), quanto às especificações de preparações não estéreis, que a variação da concentração das substâncias pretendidas deve ser $\pm 10\%$ do rotulado.

Contudo verifica-se que as suspensões que contêm sorbato de potássio como conservante sofrem mais oscilações na concentração de fármaco, pois tanto a CVS como a PVS sofrem uma diminuição abrupta ao 15º dia, ao contrário do que acontece nas suspensões preparadas com parabenos, onde não se verifica uma variação tão acentuada, encontrando-se os valores das concentrações num intervalo mais próximo.

Quanto à área do pico corresponde à fludrocortisona, os valores situam-se entre 1,533 $\text{mAU}\cdot\text{min}$ e os 2,4198 $\text{mAU}\cdot\text{min}$, muito semelhantes para todas as suspensões (Tabela XVII a XXI dos anexos).

Ao longo dos 31 dias de estudo, os valores encontram-se sempre bastante próximos de 100%, e o passar do tempo não afeta a variação da concentração de fármaco nas suspensões, o que permite concluir que estas mantêm a sua estabilidade química e a quantidade de fludrocortisona presente se encontra dentro das especificações.

3.2 Estabilidade física

3.2.1 Características organoléticas

A alteração das características organoléticas traduz uma alteração na estabilidade física das formulações, por isso, estas foram também alvo de estudo adicional e avaliação durante o trabalho.

Assim, ao longo do período de estudo, as cinco suspensões (Figura 14) apresentam cor branca, odor a banana, aspeto líquido viscoso, leitoso e homogéneo após agitação para a suspensão realizada pelos SF do CHUSJ (SSJ) e para as suspensões orais que contêm comprimidos de fludrocortisona (CVP e CVS), enquanto as suspensões orais de pó de fludrocortisona (PVP e PVS) apresentam um aspeto líquido fluido, opaco e homogéneo após agitação.

Desta forma, constata-se que as suspensões não sofreram alterações físicas evidentes e apresentaram as mesmas características iniciais.

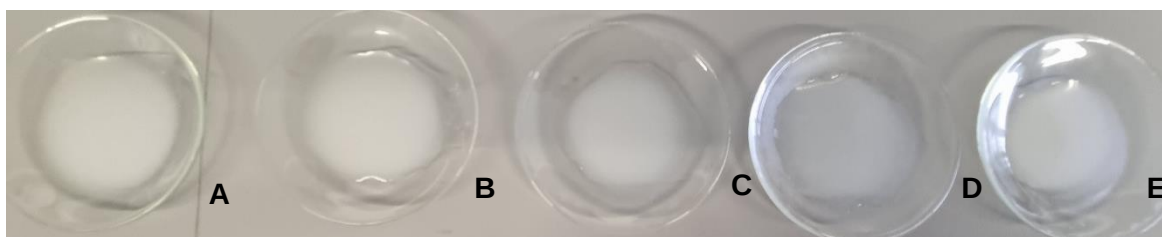


Figura 14 - Aspeto das cinco suspensões em estudo, sendo A - SSJ; B - CVP; C - CVS; D - PVP; E - PVS

O veículo B9, ainda sem fármaco incorporado e com ou sem conservantes, apresentou um aspeto muito semelhante e a mesma cor branca, odor a banana e aspeto leitoso, líquido e viscoso homogéneo após agitação.

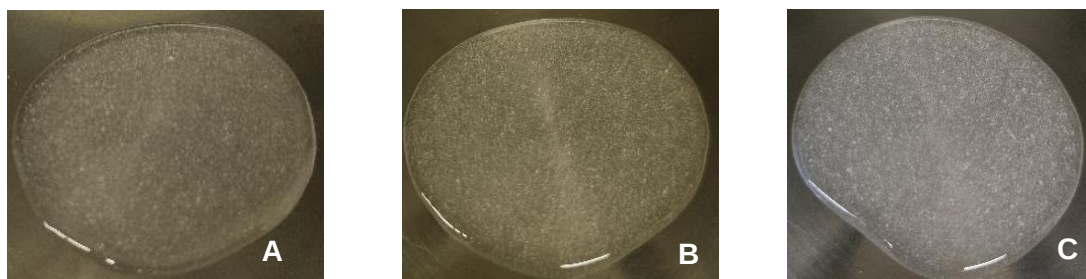


Figura 15 - A - Aspeto do veículo B9 sem conservantes; B - Aspeto do veículo B9 com concentrado de parabenos como conservante; C - Aspeto do veículo alternativo, com sorbato de potássio como conservante.

3.2.2 Determinação de pH

O veículo B9 preparado no laboratório da FFUP, sem qualquer conservante nem fármaco adicionado, apresenta como valor médio de pH 6,56.

Pela análise dos resultados presentes na Tabela XXII (nos anexos), verifica-se que os valores obtidos para o pH das cinco suspensões em estudo sofrem pequenas variações durante as 8 medições, oscilando entre os 6,47 e os 7,10, e diminui ao longo do período de estudo.

Verifica-se que as suspensões orais que contêm sorbato de potássio como conservante apresentam valores de pH próximos entre si, à volta de 7, e mais elevados do que as restantes suspensões orais.

As suspensões orais que contêm parabenos como conservante apresentam também valores próximos entre si e um valor médio de 6,80.

A suspensão oral preparada no CHUSJ apresenta, na maior parte das medições, valores menores do que as suspensões preparadas no laboratório da FFUP.

Apesar de umas suspensões terem sido preparadas a partir de comprimidos e outras a partir de pó de fludrocortisona, estas não demonstram relevância na oscilação do pH. A variação mais relevante encontra-se nas suspensões que contêm sorbato de potássio, sendo este um fator influenciador. O facto de o sorbato de potássio revelar maior atividade como conservante num pH entre 3,5-5,5 pode colocar em causa a sua eficácia nestas suspensões, uma vez que os valores de pH se encontram entre 6 e 7, contudo neste trabalho não foram realizados testes microbiológicos que comprovem a sua eficácia/ineficácia nesta situação. Por sua vez, o intervalo de atuação dos parabenos (4-8) abrange o pH apresentado pelas cinco suspensões.

Além disso, de acordo com o descrito na introdução acerca do estudo realizado no Centro Hospitalar Universitário de Pontevedra (47), onde se determina que o pH ideal para este fármaco é de 3,17, os resultados obtidos para as suspensões em estudo estão bastante distantes deste valor, uma vez que variam entre 6 e 7. Contudo, as variações são pequenas, podendo afirmar-se que o pH não afeta a estabilidade das suspensões estudadas.

3.2.3 Ensaio de sedimentação

Na Tabela XXIII (em anexos) e na Figura 16 encontram-se os resultados obtidos para o ensaio de sedimentação. Verifica-se que passado 1 hora ainda não existia a formação de sedimento, com aspeto bastante homogéneo (Figura 30 nos anexos), o que permite uma correta e segura administração do medicamento, pois assim que se agita a suspensão garante-se tempo suficiente para administrar a dose correta.

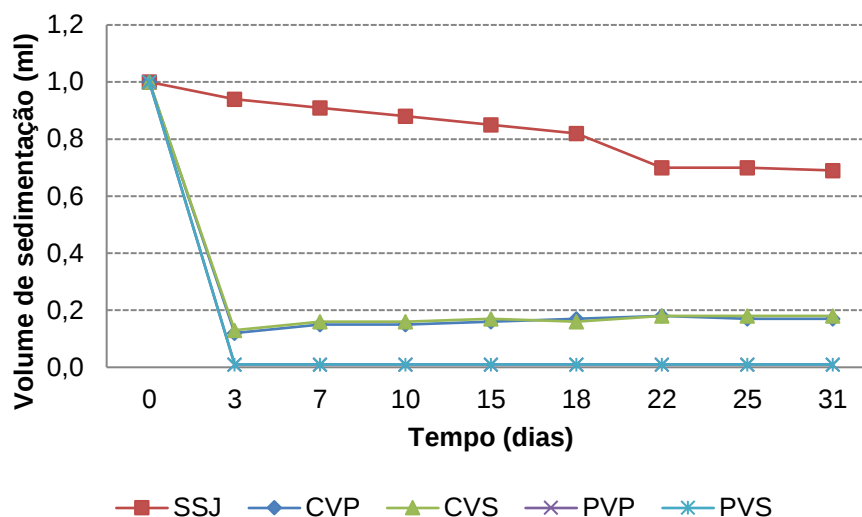


Figura 16 - Gráfico representativo do volume de sedimentação para cada uma das suspensões.

Contudo, a partir do terceiro dia o volume de sedimentação para as suspensões orais preparadas com fludrocortisona em pó decresce acentuadamente ($V_s = 0,01$) e mantém-se até ao final do estudo. O mesmo acontece com as suspensões orais de fludrocortisona em comprimidos preparadas no laboratório da FFUP em que o valor é mais elevado do que o anterior, mas considerado baixo visto que se encontra entre os 0,12 e 0,18, bastante afastado do valor ideal – $V_s = 1$. A altura de sedimento para as suspensões preparadas a partir da matéria-prima em pó foi sempre menor, pelo facto destas apresentarem a matéria-prima pura e, no caso das suspensões preparadas com comprimidos, estes apresentam excipientes que também contribuem para o aumento das partículas e, por isso, maior volume/altura de sedimento.

A suspensão oral de fludrocortisona preparada pelos SF do CHUSJ apresenta valores de volume de sedimentação bastante satisfatórios, que decrescem gradualmente a partir do terceiro dia até ao final do estudo, mas mantêm-se mais próximos de 1, variando de 0,94 a 0,69. Uma vez que esta suspensão também revelou ser mais viscosa, como se

constata mais à frente, a deposição das partículas também será mais lenta comparada às restantes suspensões.

A Figura 31, nos anexos, apresenta o aspeto das cinco suspensões no final do ensaio. Deste modo, confirma-se que o sedimento formado pelas suspensões PVP e PVS é bastante compacto e com pouco volume, o sedimento formado nas suspensões CVP e CVS é mais alto do que os anteriores e da SSJ mais volumoso ainda e branco. Em todas, é possível distinguir com facilidade o sedimento do veículo, visto que o primeiro apresenta cor branca e o veículo cor transparente quase límpida.

Portanto, considera-se que as suspensões orais preparadas no laboratório da FFUP apresentam baixa redispersibilidade em comparação com a suspensão realizada pelos SF, o que pode dever-se a alguma diferença na técnica de preparação das mesmas.

3.2.4 Reologia

Na Figura 17 (esquerda) encontram-se os resultados para verificação da existência ou não de tixotropia para o veículo B9 realizado pelo CHUSJ. A recuperação verificada na 3ª etapa é de cerca de 60%, ao fim de 20 min, e como não retoma a forma original de modo imediato podemos afirmar que apresenta tixotropia.

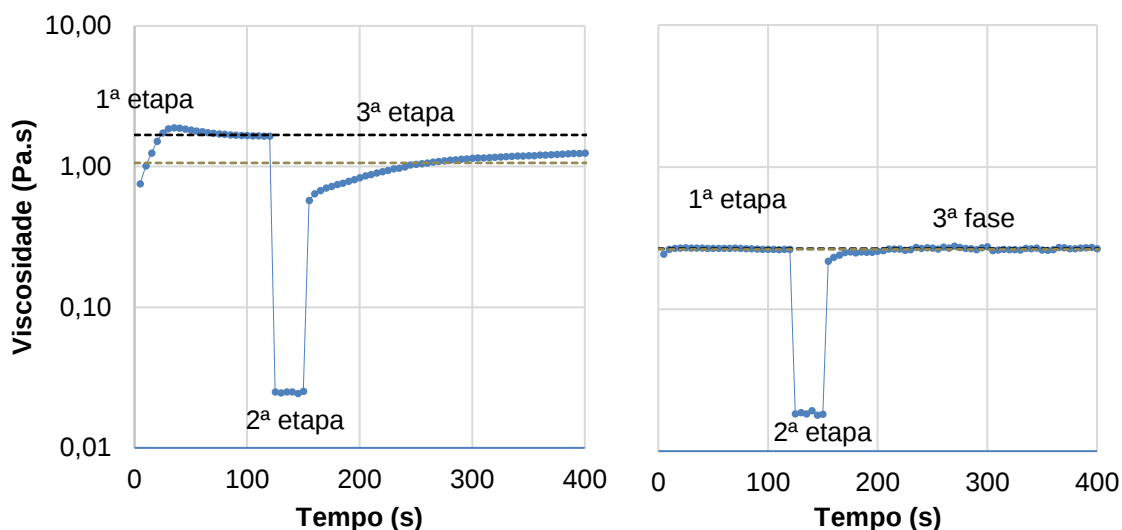


Figura 17 - Viscosidade ao longo do tempo para o veículo B9 realizado pelo CHUSJ (esquerda) e no laboratório da FFUP (direita).

Na Figura 17 (direita) encontram-se os resultados para verificação da existência ou não de tixotropia para o veículo B9 realizado na FFUP. A recuperação verificada na 3ª etapa é praticamente total (99%), e de modo imediato, e assim podemos afirmar que não apresenta tixotropia.

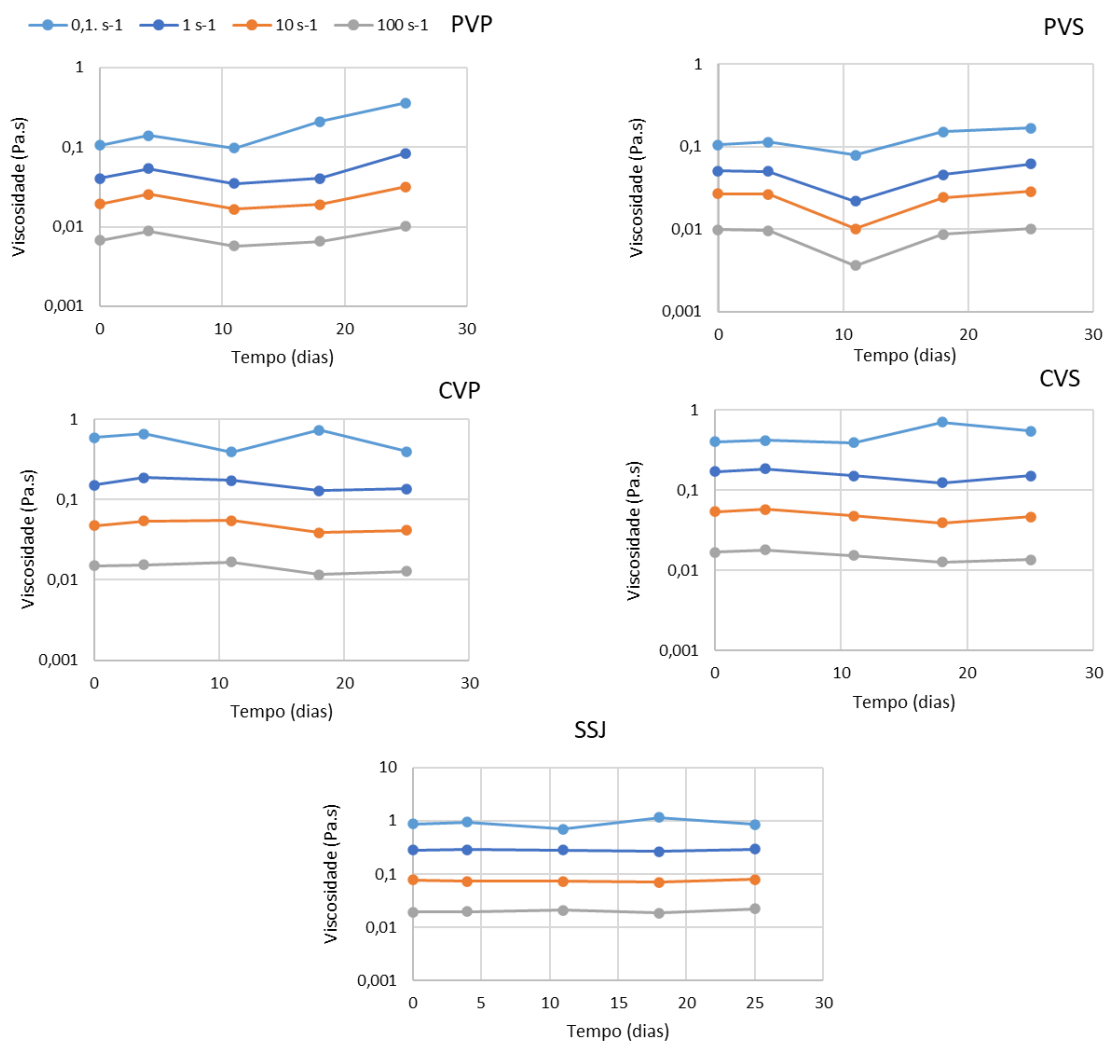


Figura 18 - Gráficos representativos da viscosidade das 5 suspensões orais em análise em função do tempo.

A Figura 34 (anexos), representativa dos ensaios de viscosidade, mostra que para todos os fluidos a viscosidade diminui com o aumento da taxa de corte, existindo uma variação não linear e por isso, as cinco suspensões apresentam um comportamento não-Newtoniano do tipo pseudoplástico ou reofluidificante. Assim, se a viscosidade diminui à medida que é aplicada uma maior taxa de corte, a suspensão é mais espessa em repouso, logo a velocidade de sedimentação é menor e por isso confere estabilidade à suspensão, e menos viscosa quando em agitação, permitindo uma administração mais fácil. A suspensão preparada pelos SF apresenta-se como a mais viscosa de todas as suspensões em estudo.

O estudo de regressão linear permitiu, também, perceber se existia uma relação entre a viscosidade e o tempo decorrido de ensaio, de acordo com o valor de p (probabilidade de significância) para o nível de significância considerado de 0,05. Na Figura 18, pode

avaliar-se a variação da viscosidade em função do tempo, desde o tempo 0 até ao final do estudo (25 dias). Para análise de resultados houve uma seleção prévia, de quatro taxas de corte diferentes (0,1, 1, 10 e 100 s⁻¹), e representadas para cada formulação, a viscosidade em função dos dias.

Verifica-se que as oscilações apresentadas são pequenas, sendo a CVP, PVP, PVS e SSJ as que apresentam resultados bastante lineares (valores de $p > 0,05$) e por isso a viscosidade não depende do tempo para estas suspensões. A CVS sofre um pequeno decréscimo a 100 s⁻¹ ($p = 0,049$) o que sugere que a viscosidade neste caso varia com o tempo. Contudo, a variação dos valores nas outras taxas de corte não são significativos por isso, a viscosidade não depende do tempo decorrido.

As suspensões preparadas a partir de comprimidos apresentam valores de viscosidade mais altos, o que demonstra serem mais viscosas, visto que as partículas apresentam maior tamanho do que o pó da substância ativa pura.

3.2.5 Tamanho de partículas

A Figura 19 representa o tamanho das partículas no início do estudo. Tal como se verifica, no tempo 0, as suspensões CVP e CVS apresentam um tamanho de partículas muito idêntico, bem como a SSJ onde a variação para estas é pouco relevante, uma vez que também é preparada a partir de comprimidos. Já as suspensões preparadas a partir de pó, PVP e PVS, apresentam um tamanho de partículas mais pequeno do que as restantes sendo a PVS a que demonstram uma maior diferença. Neste momento do estudo, a utilização de um conservante diferente não influencia o tamanho das partículas.

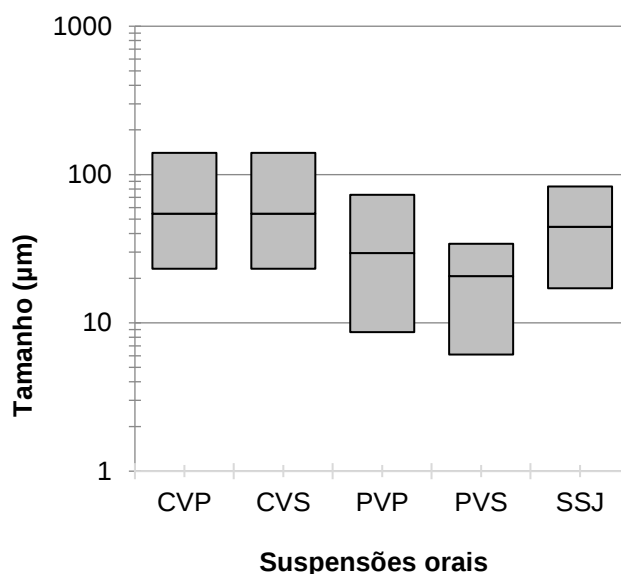


Figura 19 - Gráfico referente ao tamanho das partículas no tempo 0 para as suspensões estudadas.

Ao longo do período de teste, para a CVP a variação do tamanho das partículas foi pequena. De acordo com os percentis, 90% das partículas encontram-se abaixo dos 96,17 μm , 50% abaixo dos 37,12 μm e 10% abaixo dos 22,05 μm . Na CVS, verificou-se uma pequena variação com aumentos e decréscimos pouco relevantes ao longo dos 28 dias. De acordo com os percentis, 90% das partículas encontram-se abaixo dos 78,53 μm , 50% abaixo dos 32,82 μm e 10% abaixo dos 21,98 μm . Em relação à PVP verificou-se que o tamanho das partículas se mantém constante, sendo pequenas as variações existentes. De acordo com os percentis 90% das partículas encontram-se abaixo dos 45,48 μm , 50% abaixo dos 21,50 μm e 10% abaixo dos 8 μm .

Os resultados obtidos para a PVS, no tempo 0 e ao fim de 4 dias apresentaram uma diferença visível para o percentil 90, contudo nos restantes dias a variação do tamanho das partículas foi praticamente nula mantendo-se constante. De acordo com os percentis, 90% das partículas encontram-se abaixo dos 37,80 μm , 50% abaixo dos 20,27 μm e 10% abaixo dos 7,52 μm .

Para a SSJ, a variação concentra-se, sobretudo, acima do percentil 50, contudo demonstra ser uma variação pouco relevante que não altera a estabilidade da formulação. De acordo com os percentis, 90% das partículas encontram-se abaixo dos 77,07 μm , 50% abaixo dos 30,77 μm e 10% abaixo dos 17 μm .

Ao longo dos 28 dias de análise, a Figura 20 demonstra a baixa variabilidade de tamanho das partículas, pelas linhas constantes ao longo do tempo presentes no gráfico de cada suspensão.

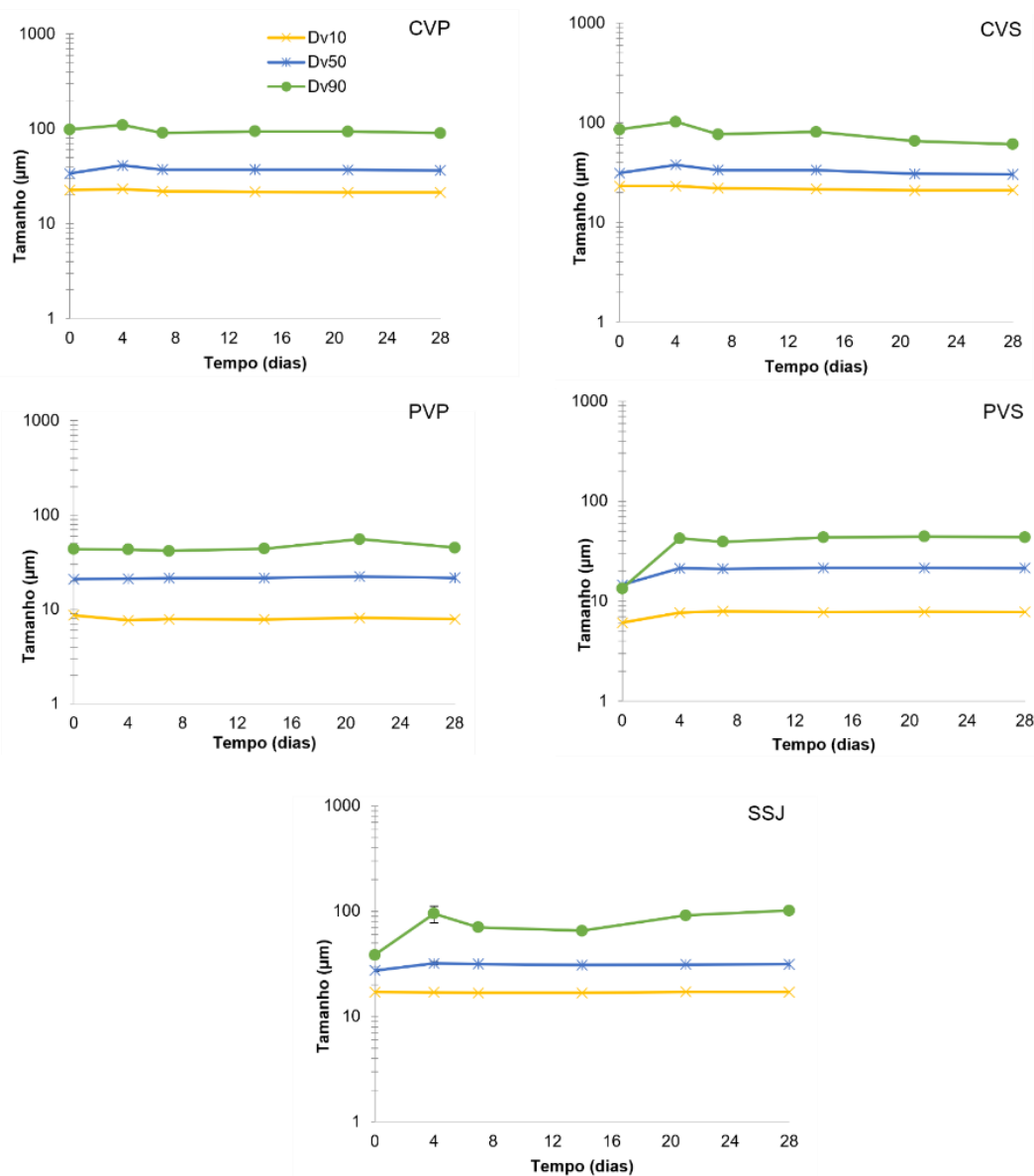


Figura 20 - Variação do tamanho das partículas ao longo dos 28 dias de análise.

Pelos dados anteriormente descritos sobre os percentis 10, 50 e 90, conclui-se que as suspensões preparadas a partir de fludrocortisona em pó apresentam valores mais baixos de tamanho das partículas, o que pode ser explicado pelo facto dos comprimidos serem formas farmacêuticas que foram compactadas a pressões muito elevadas e depois pulverizadas, e por isso as partículas em suspensão resultaram maiores. Os diferentes conservantes parecem não interferir no tamanho das partículas e os valores da suspensão realizada nos SF mostram-se semelhantes às suspensões que contêm comprimidos preparadas na FFUP.

Assim, pode concluir-se que o tamanho das partículas não afeta a estabilidade das suspensões estudadas, uma vez que as variações são pequenas.

4 Conclusões

A manipulação de medicamentos revela-se bastante útil para disponibilizar terapêuticas para as quais a indústria farmacêutica não oferece resposta, principalmente para a população pediátrica. Deste modo, esta prática representa ainda uma elevada percentagem do trabalho diário dos serviços farmacêuticos de um hospital. Daí a necessidade de se realizarem estudos que a complementem, que esclareçam dúvidas e avaliem a estabilidade das formulações preparadas, principalmente das formulações orais líquidas, para que se garanta a sua qualidade, eficácia e o rigor do trabalho executado.

Esta dissertação teve como principal objetivo avaliar a estabilidade da suspensão oral de fludrocortisona preparada pelos SF do CHUSJ de forma a aumentar o prazo de utilização da mesma, evitando deslocações adicionais ao hospital dos doentes em regime de ambulatório e facilitando a logística, rentabilizando recursos humanos e materiais da Unidade de Manipulação Clínica de Medicamentos.

Além disso, testou-se também a substituição dos parabenos pelo sorbato de potássio, também conservante, e a utilização do fármaco em pó em técnica igualmente fácil de executar para averiguar possíveis alternativas e diferenças no comportamento das suspensões preparadas.

Assim, as características organoléticas permanecem inalteráveis ao longo do período de estudo e todas as suspensões se apresentam bastante semelhantes em termos de cor e odor, sendo que as suspensões preparadas com base na fludrocortisona em pó se mostram mais fluidas do que as restantes.

Quanto ao ensaio de sedimentação, passado 1h do início do ensaio todas as suspensões apresentaram um volume de sedimentação igual a 1, revelando uma redispersibilidade ideal, muito importante para garantir uma correta administração das mesmas. Contudo, ao longo do estudo e passados os 31 dias, o volume de sedimentação das suspensões preparadas na FFUP decresce abruptamente para um valor bastante afastado de 1 e a suspensão preparada pelos SF sofre um decréscimo gradual, revelando uma redispersibilidade bastante satisfatória comparada às restantes.

O tamanho das partículas manteve-se constante, sendo que as variações existentes foram pequenas e pouco relevantes. As suspensões preparadas a partir do pó de fludrocortisona apresentam um tamanho de partículas mais pequeno do que as restantes, o que pode dever-se ao facto do fármaco se encontrar em estado puro, sem a interação de outros excipientes como acontece nos comprimidos.

Em relação à reologia, todas as suspensões apresentam um comportamento não-Newtoniano, mais concretamente pseudoplástico ou reofluidificante, uma vez que a viscosidade diminui à medida que é aplicada uma taxa de corte crescente. No caso dos veículos B9, sem substância ativa adicionada, o preparado na FFUP demonstrou não ser tixotrópico porque retoma a forma original imediatamente após a remoção da tensão de corte, ao contrário do preparado nos SF que não retoma a forma original de modo imediato e, por isso, é tixotrópico. A suspensão oral preparada nos SF revelou-se mais viscosa e as preparadas nas FFUP a partir do pó de fludrocortisona menos viscosas, sendo que na CVS, suspensão preparada a partir de comprimidos e com sorbato de potássio, a viscosidade varia com o decorrer do tempo. Contudo, estas pequenas variações não revelam ser um problema para a estabilidade física ou até para a administração das mesmas.

Quanto ao pH, ao longo do estudo os valores situam-se entre 6 e 7, sendo que as suspensões orais que incluem o sorbato de potássio como conservante apresentam valores superiores de pH em relação às restantes. Os valores ideais para se verificar uma atividade mais evidente do sorbato de potássio seriam de pH entre 3,5-5,5, o que não se comprova nesta análise. Neste caso, os parabenos apresentam um intervalo de atuação mais alargado (4 a 8) que abrange o pH apresentado pelas suspensões, o que nos garante a conservação das mesmas por parte destes. O facto de umas suspensões serem preparadas a partir do pó de fludrocortisona e outras a partir de comprimidos não demonstrou diferenças consideráveis, bem como as pequenas variações ao longo do tempo não se demonstraram relevantes.

Por fim, o método aplicado ao doseamento do fármaco foi o adequado, permitindo detetar o mesmo em todas as formulações, bem como quantificá-lo ao longo do tempo. As cinco suspensões estudadas apresentaram valores bastante satisfatórios com percentagens de recuperação e concentração de fludrocortisona próximas de 100% ao longo dos 31 dias de análise. Apesar da PVP revelar um resultado distinto das restantes suspensões quanto à regressão linear, as diferenças na variação da concentração não são relevantes.

Concluindo, as cinco suspensões orais de fludrocortisona em causa mantêm-se estáveis física e quimicamente, ao longo do período de estudo, podendo afirmar-se que cumprem as especificações e o prazo de utilização poderá ser alargado até 30 dias, tal como se pretendia comprovar com este trabalho.

5 Referências bibliográficas

1. Allen L. A history of pharmaceutical compounding. *Secundum Artem*. 2003;11.
2. Barbosa CM, Pinto S. Medicamentos manipulados que perspectiva? *Farmácia Portuguesa*. 2000 Maio/Junho:54-9.
3. Rouaz K, Chiclana-Rodriguez B, Nardi-Ricart A, Sune-Pou M, Mercade-Frutos D, Sune-Negre JM, et al. Excipients in the Paediatric Population: A Review. *Pharmaceutics*. 2021;13(3).
4. European Medicines Agency. Guideline on pharmaceutical development of medicines for paediatric use, (2013).
5. Pinto S, Barbosa CM. Medicamentos Manipulados em Pediatria Estado Actual e Perspectivas Futuras. *Arquivos de Medicina*. 2008;22.
6. Lopalco A, Denora N. Paediatric Formulation: Design and Development. *Int J Mol Sci*. 2020;21(19).
7. European Medicines Agency. Reflection paper: formulations of choice for the paediatric population, editor. EMEA/CHMP/PEG/194810/2005. Londres: EMA; 2006.
8. European Commission. Excipients in the labelling and package leaflet of medicinal products for human use. Guidelines Medicinal products for human use - Safety, environment and information. Bruxelas:2018.
9. Nogueira Prista L, Correia Alves A, Morgado R. Técnica Farmacêutica e Farmácia Galénica. 3ª ed. Lisboa:1983.
10. Samuel Bridges, Robinson L. Practical handbook for drilling fluids processing. United States of America; 2020.
11. Nogueira Prista L, Correia Alves A, Morgado R. Técnica Farmacêutica e Farmácia Galénica. 3ª ed. Lisboa;1983.
12. Kulkarni VS, Shaw C. Rheological Studies. In: Vitthal S. Kulkarni, Charles Shaw, editors. *Essential Chemistry for Formulators of Semisolid and Liquid Dosages* 2016. p. 145-82.

13. Lee CH, Moturi V, Lee Y. Thixotropic property in pharmaceutical formulations. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*. 2009;136(2):88-98.
14. Howard A. Barnes. *A handbook of elementary rheology*. Wales: The University of Wales Institute of Non-Newtonian Fluid Mechanics, Department of Mathematics, University of Wales Aberystwyth; 2000.
15. Zinato CE, Wilson Denículi, José Antonio Rodrigues de Souza, Rafael Oliveira Batista, Antonio Teixeira de Matos, Rubens Alves de Oliveira, et al. Caracterização reológica de água residuária de galinhas poedeiras. *Engenharia na Agricultura*. 2007;15:179-87.
16. Silva VB, da Costa MP. Influence of Processing on Rheological and Textural Characteristics of Goat and Sheep Milk Beverages and Methods of Analysis. *Processing and Sustainability of Beverages* 2019. p. 373-412.
17. Mezger T. *The rheology handbook*. 4th ed. Germany: Vincentz Network GmbH & Co. KG, Hanover; 2014.
18. Bruns C, Ober M. Development and Preparation of Oral Suspensions for Paediatric Patients – a Challenge for Pharmacists. *Pharmaceutical Technology in Hospital Pharmacy*. 2018;3(2):113-9.
19. Alarie H, Roullin V, Leclair G. Development of a safe and versatile suspension vehicle for pediatric use: Formulation development. *Int J Pharm*. 2019;569:118552.
20. Portal InfoCosméticos. Os conservantes conhecidos como parabenos são permitidos em produtos cosméticos? Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto Disponível em: <https://portalinfocosmeticos.pt/seguranca/os-conservantes-conhecidos-como-parabenos-sao-permitidos-em-produtos-cosmeticos/>. [Acedido em junho 2022].
21. The Personal Care Products Council. Paraben Information: Cosmetics Info; [Disponível em: <https://www.cosmeticsinfo.org/hbi/paraben-information/>]. [Acedido em junho 2022].
22. Cosmetic Ingredient Review. Final Amended Report on the Safety Assessment of Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Isopropylparaben, Butylparaben, Isobutylparaben, and Benzylparaben as used in Cosmetics Products. *Internacional Journal of Toxicology*. 2008;27:1-82.

23. Comissão Europeia. Lista dos conservantes autorizados nos produtos cosméticos, (2017). Disponível em: L_2009342PT.01005901.xml (europa.eu). [Acedido em junho de 2022].
24. Rowe R, Sheskey P, Quinn M. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6th ed. Washington,USA: London:Pharmaceutical Press; 2009. 917.
25. European Medicines Agency. Reflection paper on the use of methyl- and propylparaben as excipients in human medicinal products for oral use. EMA/CHMP/SWP/272921/2012. Londres: EMA; 2015.
26. Scientific Committee on Consumer Safety. Parabens - Updated request for a scientific opinion on propyl- and butylparaben. Luxembourg: European Commission; 2013.
27. Mowad CM. Parabens — A common allergen with lots of hype and no real harm: American Academy of Dermatology Association; 2019. Disponível em: <https://www.aad.org/dw/dw-insights-and-inquiries/2019-archive/september/parabens>. [Acedido em junho 2022].
28. Sweetman Se. Potassium Sorbate. In: Sweetman S, editor. Martindale: The complete drug reference. I. 36th ed. Colorado, USA: London: Pharmaceutical Press; 2009. p. 1662.
29. Sylvetsky A, Rother KI, Brown R. Artificial sweetener use among children: epidemiology, recommendations, metabolic outcomes, and future directions. *Pediatr Clin North Am*. 2011;58(6):1467-80, xi.
30. Baymeeva NV, Platova AI, Miroshnichenko II, Belovolov AY, Gladkikh VD, Tatarinov AM. High Performance Liquid Chromatography/Mass Spectrometry Method for Quantitative Determination of Fludrocortisone in Human Blood Plasma. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2021;55(5):510-5.
31. Ribot M, Polito A, Grassin-Delyle S, Annane D, Alvarez JC. Human plasma quantification of fludrocortisone using liquid chromatography coupled with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry after low-dosage administration. *Clin Chim Acta*. 2013;420:109-13.
32. Vijey Aanandhi M, Elanchezian K, Yamini R, Prakash Chand T, Aysha Jadeera KA, Binoy Varghese C. Method Development and Validation of Fludrocortisone Acetate

- Tablets by Reverse Phase HPLC Method. International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences. 2020;11(4):6826-33.
33. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 31378, Fludrocortisone USA 2022. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Fludrocortisone>. [Acedido em janeiro de 2022].
34. Sweetman Se. Fludrocortisone Acetate. In: Sweetman S, editor. Martindale: The Complete Drug Reference. I. 36th ed. Colorado, USA: London:Pharmaceutical Press; 2009. p. 1490-530.
35. NORD. Addison's Disease EUA. Disponível em: <https://rarediseases.org/rare-diseases/addisons-disease/>. [Acedido em maio de 2022].
36. Huecker MR BB, Dominique E. Adrenal Insufficiency. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441832/>. [Acedido em maio de 2022].
37. Michels A, Michels N. Addison Disease: Early detection and treatment principles. American Family Physician. 2014;89:563-8.
38. Husebye E, Pearce S, Krone N, Kämpe O. Adrenal insufficiency. The Lancet. 2021;397(10274):613-29.
39. Asociación Española de Pediatría. Fludrocortisona. Espanha 2015. Disponível em: <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/fludrocortisona>. [Acedido em maio 2022].
40. Ministério da Saúde. Decreto-Lei nº 1760/2006, de 30 de Agosto, (2006).
41. United States Pharmacopeia. Stability considerations in dispensing practice. 2008. In: US Pharmacopeia 29-NF24. Estados Unidos da América; [3029]. Disponível em: http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_c1191.html. [Acedido em janeiro 2022].
42. Thompson JE. Compatibility and Stability of Drug Products and Preparations. A Practical Guide to Contemporary Pharmacy Practice. 3 ed. Madison, Wisconsin: Lippincott Williams & Wilkins; 2009. p. 672-701.
43. Carvalho FG, Moreno SA. Estudos de estabilidade e prazos de validade de produtos farmacêuticos. ROF 101. 2012.

44. Allen LV, Bassani GS, Elder EJ, Parr AF. Strength and stability testing for compounded preparations. 2014. In: United States Pharmacopeia. Disponível em: <https://www.usp.org/sites/default/files/usp/document/FAQs/strength-stability-testing-compounded-preparations.pdf>. [Acedido em janeiro 2022].
45. European Medicines Agency. ICH Topic Q 1 A (R2) Stability Testing of new Drug Substances and Products. London: EMA; 2006.
46. Khan YH, Ahmad A, Butt MH, Misbah S, Iqbal MS, Mallhi TH. Role of Decomposition on Drug Stability. Drug Stability and Chemical Kinetics; 2020. p. 83-94.
47. Vazquez-Blanco S, Gonzalez-Freire L, Davila-Pousa MC, Crespo-Diz C. pH determination as a quality standard for the elaboration of oral liquid compounding formula. Farm Hosp. 2018;42(6):221-7.
48. Waters. How Does High Performance Liquid Chromatography Work? USA; 2022. Disponível em: https://www.waters.com/waters/en_US/How-Does-High-Performance-Liquid-Chromatography-Work%3F/nav.htm?cid=10049055&locale=en_U. [Acedido em janeiro de 2022].
49. VijeyAanandhi M, Elancheziyan K, Prakash Chand T, Yamini R, Aysha Jadeera K A, Cherian BV. A comprehensive review on method development of fludrocortisone acetate. High Technology Letters 2021;27(3):155-62.
50. Departamento de Engenharia Química. Cromatografia Coimbra: Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade de Coimbra. Disponível em: <http://labvirtual.eq.uc.pt/siteJoomla/index.php?Itemid=451>. [Acedido em janeiro de 2022].
51. Linde. High performance liquid chromatography (HPLC) Germany. Disponível em: http://hiq.lindegas.com/en/analytical_methods/liquid_chromatography/high_performance_liquid_chromatography.html. [Acedido em janeiro de 2022].
52. FDA. Current Good Manufacturing Practice - Guidance for Human Drug Compounding Outsourcing Facilities Under Section 503B of the FD&C Act.; 2020.
53. Associação Nacional das Farmácias. Formulário Galénico Português. Lisboa: ANF; 2001.

54. United States Pharmacopeia. Compounding Standards and Beyond-Use Dates (BUDs). United States of America: USP; 2019.
55. Parlamento Europeu. Não comercialização de Fludrocortisona em Portugal; 2010. Disponível em: https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/E-7-2010-010311_PT.html. [Acedido em maio de 2022].
56. Adamed Pharma. Cortineff 100 µg, tablets Czosnów; 2019. Disponível em: <https://myhealthbox.eu/en/cortineff-100mcg-tablets/5423860>. [Acedido em maio de 2022].
57. Robles H. Acetonitrile. Encyclopedia of Toxicology. 2014. p. 40-2.
58. European Medicines Agency. Questions and answers on propylene glycol used as an excipient in medicinal products for human use. EMA/CHMP/704195/2013. Londres: EMA; 2017.
59. Lim T, Poole R, Pageler N. Propylene Glycol Toxicity in Children. JPPT. 2014;19:277-82.
60. CDER. Validation of Chromatographic Methods. Center for Drug Evaluation and Research; 1994.
61. EDQM. Ph. Eur. Commission adopts harmonised general chapter 2.2.46. Chromatographic separation techniques. France: Council of Europe; 2022. Disponível em: <https://www.edqm.eu/en/-/ph.-eur.-commission-adopts-harmonised-general-chapter-2.2.46.-chromatographic-separation-techniques>. [Acedido em julho de 2022].
62. European Medicines Agency. Note for guidance on validation analytical procedures: text and methodology (CPMP/ICH/381/95) 1995. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-2-r1-validation-analytical-procedures-text-methodology-step-5_en.pdf. [Acedido em junho de 2022].
63. ANVISA. Resolução-RE Nº899 de Maio de 2003. In: Sanitária ANdV, editor. 2003.
64. Lachman L, Lieberman HA, Kanig JL. Suspensões. Teoria e prática na indústria farmacêutica. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian; 2001. p. 819-43.
65. United States Pharmacopeia. Pharmaceutical Compounding—Nonsterile Preparations. Revision Bulletin. USA: USP; 2019. p. 1.

6 Anexos

6.1 Embalagens de acondicionamento



Figura 21- Embalagem e frasco de acondicionamento dos comprimidos de acetato de fludrocortisona.



Figura 22 - Embalagem de acondicionamento (A) e pó de acetato de fludrocortisona (B).

6.2 Aparelhos utilizados



Figura 23 – HPLC - Dionex UltiMate 3000.



Figura 24 – Difratómetro laser – Mastersizer 3000.

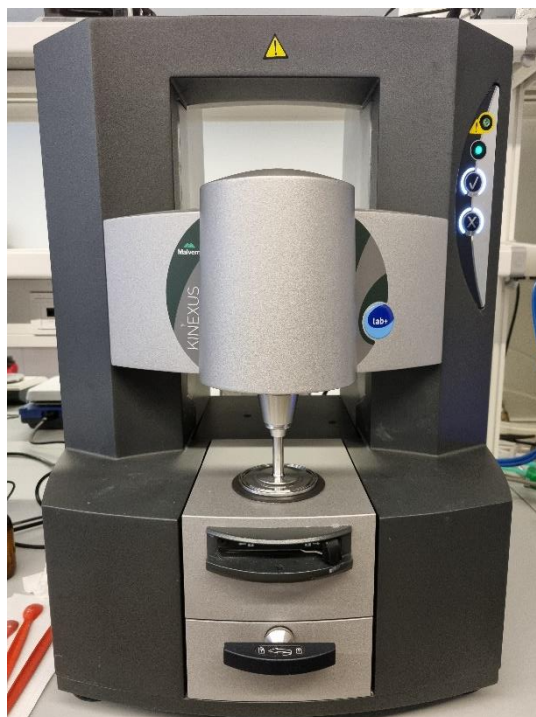


Figura 25 – Reómetro - KinexusLab.



Figura 26 - Agitador mecânico.



Figura 27 - Banho de ultrassons.



Figura 28 – Espectrofotómetro de feixe duplo.



Figura 29 - Potenciómetro.

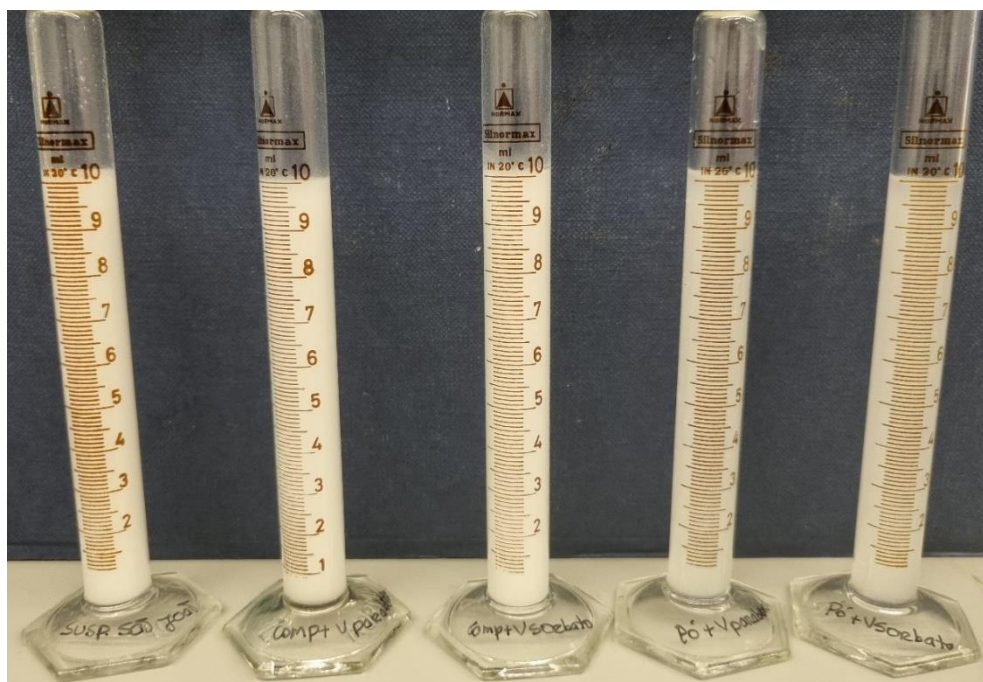
6.3 Aspetto das suspensões no início e no fim do ensaio de sedimentação

Figura 30 - Ensaio de sedimentação no tempo zero.



Figura 31 - Ensaio de sedimentação passados 31 dias.

6.4 Ficha de preparação da suspensão oral de fludrocortisona do CHUSJ



Centro Hospitalar de São João, EPE

Ficha Técnica de Preparação

Impressão	
Data / Hora:	2021-10-20 16:51
Utilizador:	U001398
Página:	1 / 2

Preparação: FLUDROcortisona 0,1 mg/ml Susp oral Fr 25 ml - 80001930

Nº da Guia/Lote: GP2021100299

Quantidade a preparar: 1

Data de preparação: 20-10-2021 16:51

Matérias-primas	Origem	Nº Lote / Prazo Valid.	Quantidade Calculada	Quantidade Pesada	Rubrica do Operador e data	Rubrica do Supervisor e data
FLUDROcortisona 0.1 mg Comp 10074821			2.5 MG			
MP Veículo para preparação Suspensões orais, isento açúcar (FGP B.9), ml AC175			25 ML (qbp)			

Equipamento

Almofariz/pilão, proveta graduada/rolhada, frasco para acondicionamento.

Técnica de Preparação

1. Em almofariz, pulverizar os comprimidos.	✓
2. Adicionar parte do veículo e homogeneizar.	
3. Transferir para proveta graduada/rolhada, lavando o almofariz com o veículo.	
4. Completar volume final com veículo. Homogeneizar.	
5. Acondicionar e rotular.	

Rubrica do Operador _____

Material de embalagem	Capacidade	Nº do lote	Origem	Rubrica do Operador
Frasco 30	25ML			

Figura 32 - Parte da Ficha de Preparação da Suspensão oral de Fludrocortisona dos SF.

6.5 Resultados obtidos para a simetria de pico, pratos teóricos e fator de retenção (K') para as diferentes percentagens de eluentes analisadas

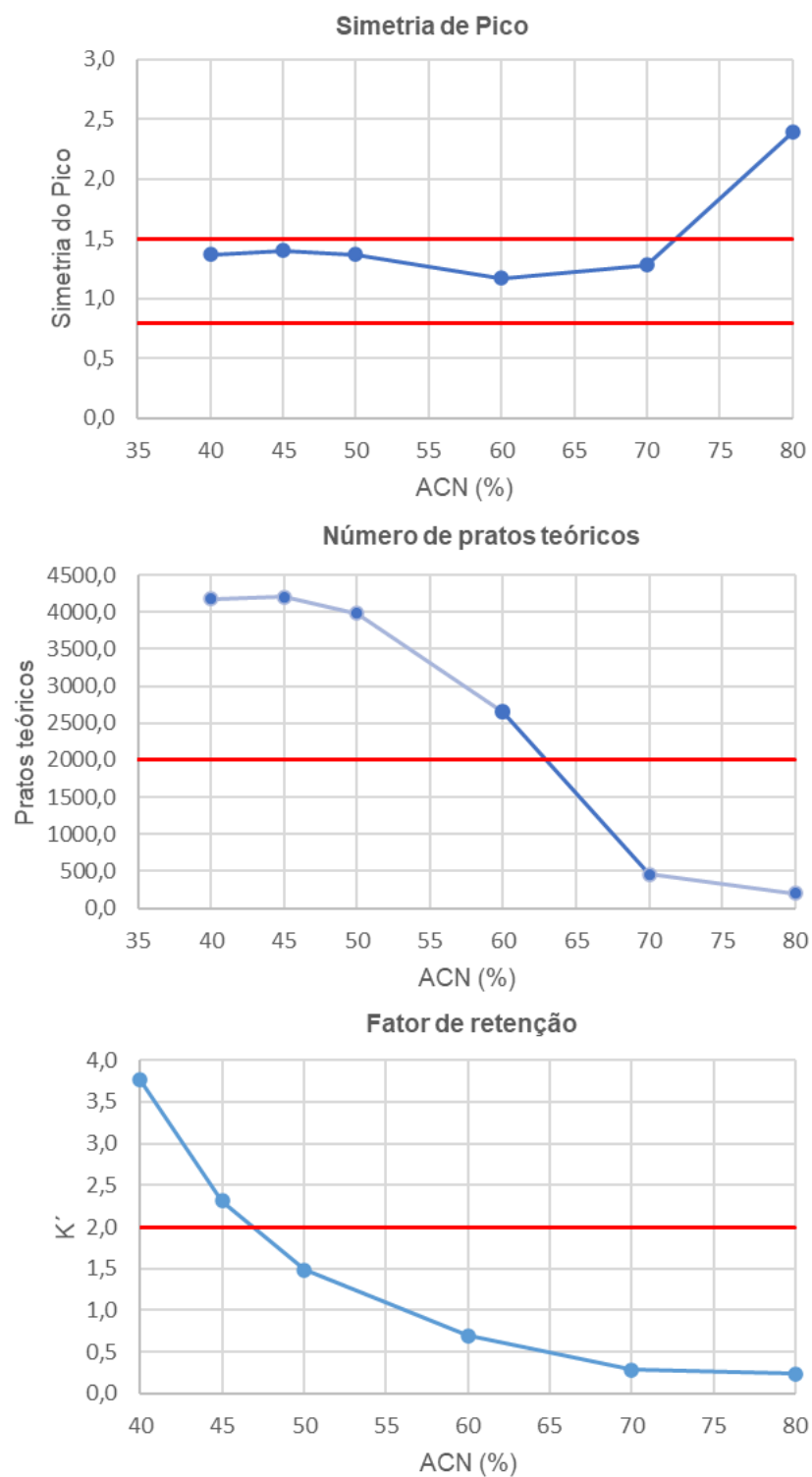


Figura 33 - Gráficos da simetria de pico, pratos teóricos e fator de retenção (K').

6.6 Resultados obtidos no doseamento de fludrocortisona

Tabela XVII - Resultados obtidos para a suspensão oral de comprimidos de fludrocortisona em veículo B9 com parabenos.

Tempo (dias)	Tempo de retenção	Área (mAU*min)	Pratos teóricos	Concentração (µg/ml)	Recuperação (%)
0	2,577	2,0282	2147	99,22	97,14
	2,563	1,7452	1989		
	2,550	1,7394	1901		
4	2,653	1,9579	2101	98,23	96,16
	2,633	1,7675	1883		
	2,633	1,7302	1855		
7	2,597	2,0252	1556	99,08	97,00
	2,600	1,7572	1507		
	2,593	1,7219	1499		
15	2,560	1,9762	1317	100,64	98,53
	2,567	1,7784	1276		
	2,560	1,8393	1230		
21	2,767	1,9357	2285	96,91	94,87
	2,690	1,7062	1625		
	2,680	1,7381	1586		
27	2,670	2,0229	2202	100,82	98,70
	2,670	1,7741	2000		
	2,670	1,8074	1984		
31	2,627	1,8416	2387	93,23	91,28
	2,613	1,6716	2078		
	2,613	1,6560	2059		

Tabela XVIII - Resultados obtidos para a suspensão oral de comprimidos de fludrocortisona em veículo alternativo com sorbato de potássio.

Tempo (dias)	Tempo de retenção	Área (mAU*min)	Pratos teóricos	Concentração (µg/ml)	Recuperação (%)
0	2,630	2,0569	1525	100,79	98,67
	2,637	1,7969	1510		
	2,637	1,7507	1493		
4	2,610	2,0468	1587	101,33	99,20
	2,607	1,7319	1560		
	2,597	1,855	1474		
7	2,590	2,1905	1459	108,78	106,50
	2,590	1,9217	1456		
	2,590	1,9489	1420		
15	2,563	1,8424	1262	91,98	90,05
	2,563	1,5907	1189		
	2,563	1,6643	1211		
21	2,673	1,8499	1571	93,33	91,37
	2,670	1,6378	1568		
	2,663	1,6872	1539		
27	2,663	1,7607	1983	88,15	86,30
	2,663	1,584	1940		
	2,667	1,533	2004		
31	2,613	2,0605	2026	99,87	97,77
	2,613	1,7372	2008		
	2,613	1,7522	2007		

Tabela XIX - Resultados obtidos para a suspensão oral de fludrocortisona em pó em veículo B9 com parabenos.

Tempo (dias)	Tempo de retenção	Área (mAU*min)	Pratos teóricos	Concentração (µg/ml)	Recuperação (%)
0	2,520	2,0848	1917	104,67	102,47
	2,523	1,8905	1825		
	2,527	1,8499	1788		
4	2,603	2,0421	1586	104,12	101,94
	2,593	1,8337	1516		
	2,593	1,918	1472		
7	2,593	1,952	1438	99,77	97,67
	2,590	1,7569	1450		
	2,587	1,835	1367		
15	2,560	1,9333	1275	99,65	97,56
	2,557	1,7454	1237		
	2,560	1,8587	1238		
21	2,643	1,8246	1522	92,59	90,64
	2,640	1,6726	1501		
	2,637	1,635	1510		
27	2,663	1,9438	2046	96,96	94,93
	2,663	1,7329	1975		
	2,663	1,7063	2002		
31	2,613	1,9586	2063	96,71	94,68
	2,613	1,7228	2033		
	2,613	1,687	2078		

Tabela XX - Resultados obtidos para a suspensão oral de fludrocortisona em pó em veículo alternativo com sorbato de potássio.

Tempo (dias)	Tempo de retenção	Área (mAU*min)	Pratos teóricos	Concentração (µg/ml)	Recuperação (%)
0	2,637	2,3742	1640	116,86	114,40
	2,627	2,0204	1582		
	2,623	2,1294	1529		
4	2,597	2,4198	1458	120,80	118,26
	2,597	2,1149	1427		
	2,6	2,2153	1433		
7	2,587	2,284	1409	112,65	110,28
	2,59	2,0611	1364		
	2,587	1,9375	1414		
15	2,56	1,8697	1245	93,96	91,99
	2,56	1,6134	1273		
	2,563	1,7279	1281		
21	2,65	2,1338	1515	105,88	103,66
	2,643	1,8785	1498		
	2,64	1,8823	1486		
27	2,663	2,1722	2013	109,06	106,77
	2,66	1,9385	1979		
	2,657	1,966	1993		
31	2,613	2,1786	2059	110,26	107,95
	2,613	2,022	2025		
	2,613	1,9453	2022		

Tabela XXI - Resultados obtidos para a suspensão oral de fludrocortisona preparada pelos SF do CHUSJ.

Tempo (dias)	Tempo de retenção	Área (mAU*min)	Pratos teóricos	Concentração (µg/ml)	Recuperação (%)
0	2,543	2,1338	1730	109,46	107,16
	2,577	1,9567	1669		
	2,597	2,0095	1629		
4	2,593	2,2435	1488	111,21	108,88
	2,593	2,0937	1444		
	2,593	1,8632	1525		
7	2,647	2,0748	1805	104,57	102,37
	2,603	1,872	1569		
	2,597	1,8726	1529		
15	2,61	2,2346	1462	106,23	104,00
	2,563	1,8494	1312		
	2,567	1,8305	1325		
21	2,643	1,9711	1533	100,22	98,12
	2,63	1,7645	1505		
	2,63	1,8343	1503		
27	2,677	2,1717	1717	108,66	106,38
	2,633	1,9392	1495		
	2,627	1,9433	1454		
31	2,613	1,9972	2076	98,96	96,88
	2,613	1,7531	2036		
	2,613	1,7472	2029		

6.7 Resultados da determinação de pH

Tabela XXII- Resultados obtidos de pH para cada suspensão oral à temperatura indicada.

	pH (média ± desvio padrão)							
Suspensão oral	Dia 1 21°C	Dia 2 19,7°C	Dia 3 18,7°C	Dia 4 17,8°C	Dia 5 20,5°C	Dia 6 20,2°C	Dia 7 21,5°C	Dia 8 20,8°C
SSJ	6,64 ±0,06	6,61 ±0,18	6,85 ±0,03	6,76 ±0,03	6,78 ±0,06	6,74 ±0,03	6,59 ±0,10	6,53 ±0,11
CVP	6,87 ±0,01	6,80 ±0,09	6,93 ±0,01	6,89 ±0,03	6,79 ±0,03	6,74 ±0,02	6,74 ±0,06	6,76 ±0,04
CVS	7,05 ±0,02	7,01 ±0,03	7,01 ±0,05	6,99 ±0,01	6,92 ±0,01	6,75 ±0,03	6,53 ±0,07	6,47 ±0,02
PVP	6,80 ±0,06	6,86 ±0,06	6,83 ±0,05	6,82 ±0,08	6,76 ±0,05	6,66 ±0,03	6,63 ±0,01	6,61 ±0,01
PVS	7,10 ±0,16	7,09 ±0,05	7,04 ±0,06	6,96 ±0,08	6,89 ±0,06	6,82 ±0,10	6,73 ±0,08	6,76 ±0,04

6.8 Resultados do ensaio de sedimentação

Tabela XXIII- Resultados do volume de sedimentação ao longo do tempo para cada suspensão oral.

Tempo Suspensão oral	0	1h	3 dias	7 dias	10 dias	15 dias	18 dias	22 dias	25 dias	31 dias
SSJ	1	Sem sedimen to	0,94	0,91	0,88	0,85	0,82	0,70	0,70	0,69
CVP	1	Sem sedimen to	0,12	0,15	0,15	0,16	0,17	0,18	0,17	0,17
CVS	1	Sem sedimen to	0,13	0,16	0,16	0,17	0,16	0,18	0,18	0,18
PVP	1	Sem sedimen to	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
PVS	1	Sem sedimen to	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

6.9 Gráficos representativos dos ensaios de viscosidade

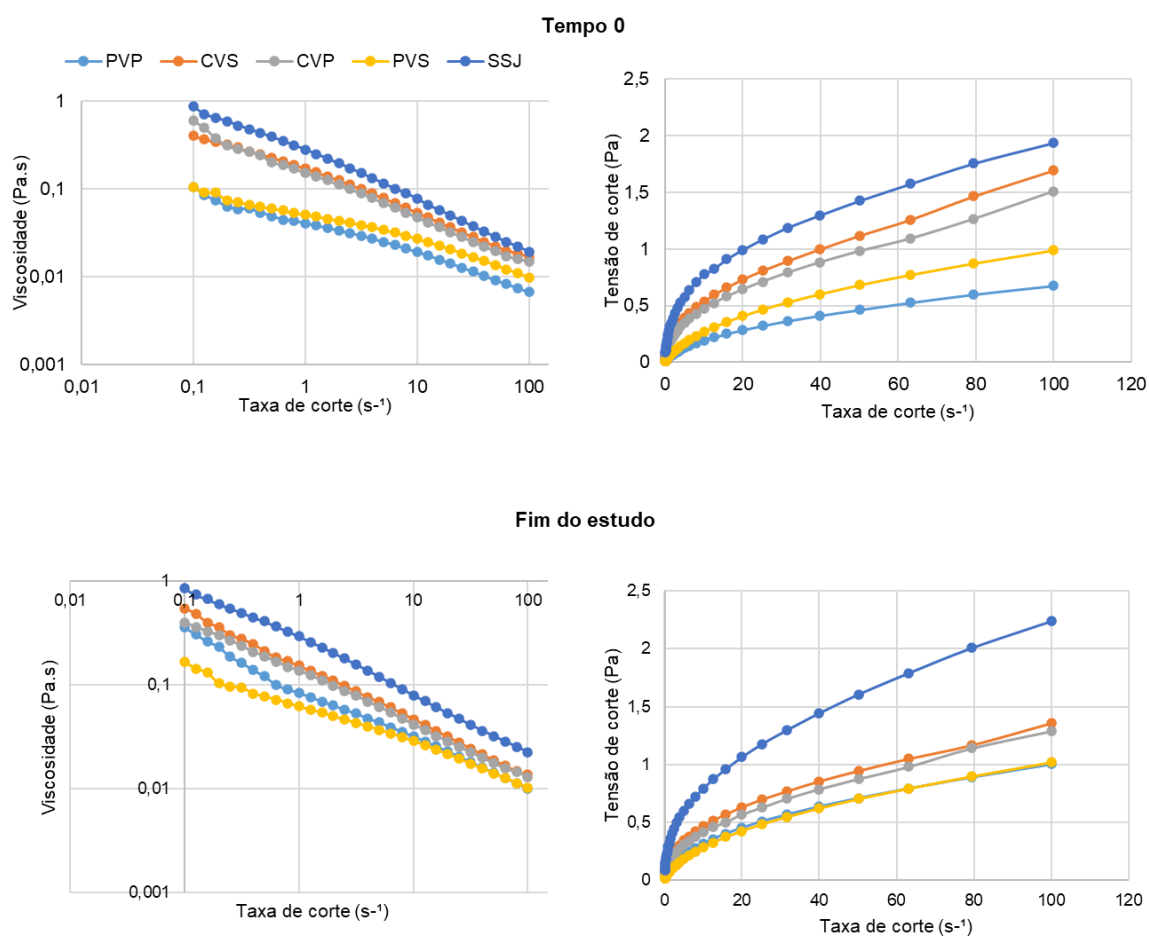


Figura 34 – Gráfico da viscosidade em função da taxa de corte (à esquerda) e gráfico da tensão de corte em função da taxa de corte (à direita) para as 5 suspensões em análise.

7 Glossário

Defloculada – suspensão onde as partículas se encontram independentes, sem agregados e a velocidade de sedimentação é lenta.

Dilatante – é um tipo de comportamento não-Newtoniano, no qual a viscosidade aumenta quando é aplicada uma tensão crescente.

Floculada – suspensão onde as partículas se encontram agregadas, em flóculos.

Hipocalemia – níveis baixos de potássio no sangue.

Hipovolemia – diminuição do volume de sangue.

Mastersizer – aparelho para uso laboratorial que analisa e mede o tamanho de partículas, utilizando a técnica de difração a laser, através da medição da intensidade da luz espalhada.

Pseudoplástico - é um tipo de comportamento não-Newtoniano, no qual a viscosidade diminui quanto maior tensão for aplicada.

Redispersibilidade – capacidade para o sedimento se desagregar em pequenas partículas e se manter disperso no veículo. É possível através da agitação, por exemplo.

Reómetro – aparelho para uso laboratorial que mede a resposta de um líquido sob uma determinada força. Permite avaliar a reologia.

Reopexia – são fluidos em que a viscosidade aumenta sob aplicação de uma força constante.

Shear rate – também designada por velocidade de deformação, representa a variação da velocidade na deformação de um determinado material.

Shear stress – também designada de tensão de corte, representa a força aplicada, em sentidos opostos ou não, e que provoca deformação em um determinado material.

Tixotropia – propriedade de um material para retomar a viscosidade passado um determinado tempo, depois de aplicada uma determinada força, uma vez que a viscosidade diminui à medida que o tempo aumenta.

Viscosidade – é uma propriedade dos fluidos que mede a resistência ao escoamento.