

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE FARMÁCIA

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE DERIVAÇÃO
HOSPITALAR DO FÁRMACO TACROLIMO**

GABRIELE BORDIGNON PRIMIERI

PORTO ALEGRE, 2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE FARMÁCIA

Gabriele Bordignon Primieri

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE DERIVAÇÃO
HOSPITALAR DO FÁRMACO TACROLIMO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Farmácia da Universidade Federal do Rio grande do Sul como requisito à obtenção do título de grau de Farmacêutico.

Orientador: Prof. Dr. Martin Steppe

Coorientadora: Msc. Caroline Rita Venturi

Porto Alegre, 2022

AGRADECIMENTOS

A todos os integrantes do Laboratório de Controle de Qualidade Farmacêutico da UFRGS por me acolherem desde o início da minha jornada como bolsista de Iniciação Científica, me fornecendo aporte, conhecimento em vários segmentos e motivação para seguir. Em especial ao meu orientador, professor Martin Steppe pelo suporte, confiança e tranquilidade, sempre mantendo a mente aberta para questionamentos e sugerindo ideias. À Caroline Venturi por aceitar esse desafio, por todo o auxílio na bancada e fora dela, discutindo e encontrando respostas para nossas dúvidas, e pela disponibilidade, estando sempre pronta para tudo.

Aos professores da graduação pelos ensinamentos, por dividir experiências e por serem exemplos de profissionais, passando a paixão e orgulho de serem farmacêuticos. Aos meus amigos e colegas que dividiram os momentos bons e ruins da graduação, sempre encontrando algo para rir e se divertir, mesmo quando a situação estava difícil e não conseguíamos nos ver presencialmente.

A minha colega de quarto, Shanda por estar todos esses dias comigo, desde o início da faculdade, durante as aulas e no pensionato ou no apartamento. Aos meus pais, Vânia e Oscar, e meu namorado, Márcio, que sempre me motivaram, incentivaram, me passaram muita confiança nas mais diversas decisões que tive que tomar, me aconselharam nas minhas frustrações e me apoiaram, desde o início, mesmo sabendo da distância.

Todos vocês foram fundamentais para mim, MUITO OBRIGADA!!!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	V
LISTA DE TABELAS	VI
LISTA DE ABREVIATURAS.....	VII
RESUMO.....	VIII
ABSTRACT	IX
1 Introdução.....	01
2 Objetivos.....	03
2.1 Objetivo Geral.....	03
2.2 Objetivos Específicos	03
3 Revisão Bibliográfica	04
3.1 Tacrolimo.....	04
3.2 Derivação farmacêutica	06
3.2.1 Derivação do tacrolimo e sua estabilidade.....	07
3.3 Suspensões: Função dos adjuvantes.....	08
3.4 Co-validação.....	09
4 Materiais e Métodos.....	10
4.1 Fármaco e medicamento	10
4.2 Soluções para análise	11
4.3 Desenvolvimento da suspensão a partir das cápsulas.....	11
4.4 Cromatografia líquida de alta eficiência.....	12
4.4.1 Co-validação	12
4.4.1.1 Seletividade	13
4.4.1.2 Exatidão	13
4.4.1.3 Precisão	14
4.4.2 Avaliação do teor do fármaco em suspensão	14
4.5 Estudo de estabilidade da suspensão	14
5 Resultados e Discussão	15
5.1 Co-validação.....	15
5.1.1 Seletividade.....	15
5.1.2. Precisão	16
5.1.3 Exatidão	17
6 Desenvolvimento da suspensão	17
7 Estudo de estabilidade.....	22
7.1 Parâmetros físico-químicos	22
7.2 Doseamento	24
8 Conclusão.....	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química do tacrolimo.....	04
Figura 2. Cromatograma demonstrando a seletividade do método.....	16
Figura 3. Cromatograma da suspensão com propilenoglicol 4%.....	20
Figura 4. Comparação dos cromatogramas da suspensão com propilenoglicol 10% (azul) e 25% (vermelho).....	20
Figura 5. Cromatograma da suspensão com Tween 80® em 3%.....	21
Figura 6. Cromatograma da suspensão com polietilenoglicol 8%.....	21
Figura 7. Gráfico contendo a média da viscosidade da formulação durante 30 dias.....	24
Figura 8. Gráfico contendo a média do pH da formulação durante 30 dias.....	24
Figura 9. Gráfico contendo o teor médio do tacrolimo durante 30 dias nas duas condições de armazenamento.....	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Preparo das formulações com as proporções de agentes molhantes.....	12
Tabela 2. Condições cromatográficas.....	12
Tabela 3. Resultados da precisão do método.	16
Tabela 4. Resultados da exatidão do método.....	17
Tabela 5. Resultados do teor do fármaco em diferentes formulações.....	18
Tabela 5. Continuação: Resultados do teor do fármaco em diferentes formulações...	19
Tabela 6. Resultados da viscosidade da formulação durante 30 dias.....	23
Tabela 7. Resultados do pH da formulação durante 30 dias.....	23
Tabela 8. Resultados da estabilidade em temperatura ambiente.....	26
Tabela 9. Resultados da estabilidade durante o armazenamento a 40°C.....	26

LISTA DE ABREVIATURAS

ACN – Acetonitrila

Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

DPR – Desvio padrão Relativo

FDA - Food and Drug Administration

GM-CSF - Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos e Macrófagos

HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

IL - Interleucinas

PEG 400 – Polietilenoglicol 400

PET - Poli Tereftalato de Etila

TNF – Fator de necrose tumoral

USP - United States Pharmacopeial

RESUMO

O tacrolimo é um medicamento imunossupressor amplamente utilizado em hospitais para o tratamento de pacientes que passaram por transplantes de órgãos. Muitas vezes, os pacientes hospitalizados necessitam ou apresentam melhor adesão ao administrar o tacrolimo em formas farmacêuticas líquidas. Porém, este fármaco vem sendo comercializado apenas na forma sólida para o uso oral, estando indisponível como solução ou xarope, e na literatura constam suspensões com insumos de alto valor e complexidade. Portanto este trabalho objetivou desenvolver e avaliar a estabilidade do tacrolimo em uma formulação líquida simples com eficácia, segurança e estabilidade equiparável. As análises foram desenvolvidas de acordo com método da USP (2018), sendo co-validado, garantindo sua exatidão, precisão e especificidade. A partir das análises desenvolvidas, determinou-se a derivação do tacrolimo em suspensão, bem como o agente molhante em sua proporção ideal para obter teor de fármaco em CLAE dentro dos limites aceitáveis, sendo este o polietilenoglicol 400 a 8%. Em seguida, as amostras foram submetidas a avaliação dos parâmetros físico-químicos, sendo viscosidade, pH, volume de sedimentação e características organolépticas, e de doseamento, durante 30 dias em temperatura ambiente e a 40°C. A formulação manteve sua integridade durante os 30 dias de armazenamento à temperatura ambiente contando com teor entre 90 – 110%, viscosidade acima de 200 cP, pH neutro e volume de sedimentação abaixo de 3 mL. Porém, o tacrolimo se demonstrou sensível ao calor, observando degradação ainda nos dez primeiros dias de análise a 40°C, com possível formação de produtos de degradação e no vigésimo dia o teor obtido foi abaixo de 90%. Assim, pode-se afirmar a partir deste trabalho que o tacrolimo desenvolvido apresenta teor e homogeneidade de dose adequada durante 30 dias, devendo ser armazenado ao abrigo da luz e em temperatura ambiente.

Palavras-chave: Tacrolimo; derivação; co-validação; estabilidade; suspensão.

ABSTRACT

Tacrolimus is an immunosuppressive drug widely used to treat patients who have undergone organ transplants. Often the patients with this treatment at hospitals need or have better access if administered tacrolimus in liquid dosage form. However this drug has been commercialized just in solid dosage forms that are administered orally being unavailable tacrolimus solution or syrup and in the literature shows there are formulations with high value and complex inputs. Therefore, this work aimed to develop and assess the stability of a simple liquid formulation with efficacy, safety and comparable stability. The analysis was developed according with USP's method (2018), co-validated, guaranteeing its accuracy, precision and specificity. Starting at analysis developed, it was determined the derivation of tacrolimus in suspension, in addition the wetting agent should be used and its better proportions to obtain recovery of tacrolimus in HPLC within acceptable limits, being polyethylene glycol 400 to 8%. After this, the samples were submitted to the evaluation of the physical-chemical parameters, being viscosity, pH, sedimentation volume and organoleptic characteristics and the assay for 30 days at room temperature and at 40°C. The formulation continued intact for 30 days storage at room temperature with a content between 90 and 110%, viscosity above 200 cP, neutral pH and sedimentation volume below 3 mL. However, tacrolimus demonstrates sensible at 40°C with possible formation of degradation products and on the twentieth day the content obtained was below 90%. Thus, it can be said from this work that the tacrolimus formulation developed has adequate dose content and homogeneity for 30 days, and should be stored protected from light and at room temperature.

Keywords: Tacrolimus; derivation; co-validation; stability; suspension.

1 Introdução

Atualmente, ainda não está disponível uma forma comercial líquida do tacrolimo, sendo fundamental em hospitais para permitir um tratamento adequado às crianças transplantadas. Considerando que o tacrolimo é uma molécula lipossolúvel, torna-se inviável realizar uma formulação apenas com xarope simples (DRUGBANK, 2021). Assim, se faz necessária a derivação deste medicamento na forma de suspensão, bem como garantir sua estabilidade durante certo tempo de uso.

O tacrolimo é um fármaco imunossupressor, sendo administrado em hospitais a pacientes transplantados para evitar a rejeição de um novo órgão, em geral fígado, rim e coração (CARVALHO, P. R, 2012). Possui como mecanismo de ação induzir a tolerância imunológica, reduzindo a ação e a ativação dos linfócitos e citocinas (WALLER, 2019). Outra aplicação terapêutica do tacrolimo está relacionada com o uso não hospitalar para dermatite atópica em casos de ineficácia do tratamento de primeira escolha, sendo aplicado topicamente (WOLLENBERG, 2020).

Sua comercialização ocorre em cápsulas, soluções injetáveis, pó para reconstituição, pomada e creme. Na rotina hospitalar, o tratamento disponível nem sempre é o ideal para o paciente que está recebendo um cuidado individualizado, necessitando assim utilizar o setor da farmacotécnica hospitalar para realizar ajustes na formulação e/ou dose, desenvolvendo as derivações farmacêuticas e subdivisões. Para tal, o preparo deve seguir as Boas Práticas de Manipulação e os testes de controle de qualidade são fundamentais para garantir a eficácia, segurança e estabilidade das formulações (NUNES, M. S. et. al., 2020; Anvisa, 2007).

A derivação de medicamentos permite o tratamento de modo adequado para cada caso específico, quanto a dosagem e a aplicação. Para pacientes com dificuldade ou incapacidade de deglutir, como os que requerem o recebimento do tratamento por tubo nasogástrico ou gastrostomia, administrar soluções orais se torna fundamental para o tratamento (PRAMAR, et. al., 2021; JACOBSON, et.al., 1997). Quanto as crianças, há dois benefícios principais, a maior adesão ao tratamento em virtude da palatabilidade e a facilidade em diluir ou fracionar o fármaco para a dosagem necessária (FARIA, C., et. al., 2019).

Na literatura há alguns relatos não atualizados a respeito da preparação extemporânea de uma suspensão de tacrolimo a partir das cápsulas utilizando xarope simples como veículo (CARVALHO, P. R, 2012). Segundo a Farmacopeia Americana (2018) e Jacobson e colaboradores. (2012), há a necessidade da inserção de outro adjuvante na formulação para conduzir ao benefício da estabilidade da mesma, sendo o Ora-Plus®. Este apresenta vários compostos, sendo complexo para a manipulação, e com um custo elevado para a aquisição em hospitais.

Levando todos estes fatores em consideração, o objetivo deste estudo foi desenvolver uma formulação líquida do tacrolimo por derivação com menor complexidade e efetividade equivalente ou melhor, sem comprometer a segurança do tratamento em uso hospitalar, avaliando sua estabilidade durante um período limitado de tempo (PRAMAR, 2019; Anvisa, 2007) através de método cromatográfico co-validado (USP, 2018).

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver e avaliar a estabilidade de uma derivação do tacrolimo a partir de cápsulas através de método cromatográfico co-validado.

2.2 Objetivos Específicos

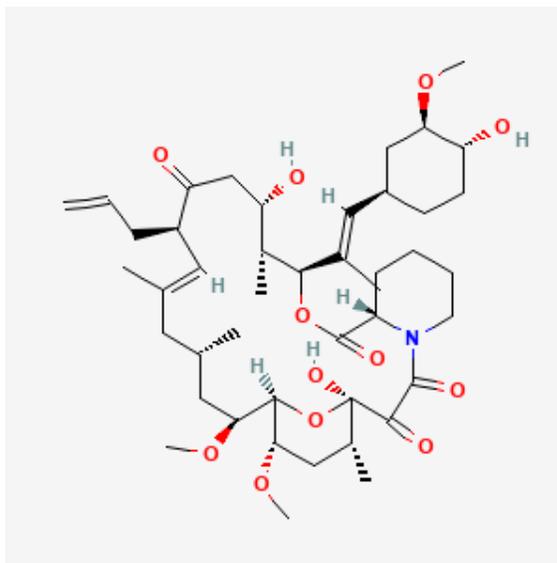
- Desenvolver uma suspensão eficaz, segura, estável e prática para utilizar na rotina hospitalar;
- Co-validar método analítico previamente desenvolvido e descrito em compêndio oficial;
- Avaliar a estabilidade durante 30 dias desta suspensão de tacrolimo, envolvendo testes físico-químicos, como características organolépticas, viscosidade, pH e volume de sedimentação, e o doseamento.

3 Revisão Bibliográfica

3.1 Tacrolimo

Descoberto em 1984, no Japão, sendo isolado de culturas da bactéria *Streptomyces tsukubaensis*, e aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration) em 1994, o tacrolimo é quimicamente conhecido como uma lactona macrolídea, da classe dos inibidores da calcineurina, apresentando ampla semelhança à ciclosporina quanto ao seu mecanismo imunossupressor (YU et al., 2018). O tacrolimo possui alto peso molecular (804,018 g/mol), baixa solubilidade em água (0.00402 mg/mL) e coeficiente de partição de 3,19, confirmando a hidrofobicidade da molécula (DRUGBANK, 2021).

Figura 1. Estrutura química do Tacrolimo (Pubchem, 2022).



O tacrolimo pode agir diretamente nos queratinócitos, reduzindo a quantidade de receptores IL-8 nestas células, os quais induziriam uma resposta inflamatória. Assim, pode ser utilizado topicamente na forma de pomadas e cremes para tratar inflamações graves da pele, destacando-se a dermatite atópica, psoríase, vitiligo e dermatite eczematosa. Porém, em geral, são a última escolha terapêutica, prevalecendo o uso dos corticoides para tais males cutâneos (WOLLENBERG, 2020).

Em hospitais, o tacrolimo é amplamente utilizado como imunossupressor em pacientes transplantados porque apresenta a capacidade de inibir a formação dos linfócitos citotóxicos, os principais causadores de rejeições de órgãos transplantados (EZQUER-GARIN, et. al., 2017). Seu mecanismo de ação consiste em limitar a atividade das interleucinas inflamatórias e reduzir a ativação dos linfócitos T, através de uma cascata de efeitos (WALLER, 2019).

A molécula do tacrolimo se conecta à proteína intracelular FKBP-12 (imunofilina) formando um complexo. Este, uma vez formado, se liga ao cálcio, a calmodulina e à enzima calcineurina, a qual não sofre a desfosforilação e impede a translocação do fator nuclear das células T ativadas (NF-AT). Assim, o NF-AT não é mais capaz de sintetizar as interleucinas envolvidas com o crescimento e diferenciação de linfocinas, como IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, GM-CSF e TNF. Com isso, há uma redução na ação e na ativação dos linfócitos, gerando menos citocinas e conseqüentemente, reduzindo a resposta imune de modo significativo (RAMOS, 2007).

Atualmente é comercializado na forma de cápsulas de diferentes dosagens (500 µg, 1 mg e 5 mg), pó para reconstituição de 200 µg e 1 mg, solução parenteral (soluções injetáveis de 5 mg/mL) ou formas farmacêuticas semissólidas quando uso tópico em 0,03 a 0,1% (CARVALHO, P. R, 2012). No entanto, ainda não existem formas comerciais orais líquidas disponíveis, sendo estas importantes para administrar a crianças ou adultos que apresentam dificuldade/incapacidade de deglutir, essencialmente em tratamento hospitalar (DRUGS.COM, 2021).

Constam apenas derivações relatadas na literatura utilizando cápsulas de tacrolimo para formar suspensões orais com xarope simples isolado ou associado ao Ora-Plus® (CARVALHO, et al. 2012; USP, 2018; JACOBSON, et al. 1997), bem como utilizando a metilcelulose como veículo (FARMACOTÉCNICA, 2022). O Ora-Plus® contém uma mistura sinérgica de compostos estabilizadores de suspensão, sendo formado por água purificada, celulose microcristalina, carboximetilcelulose sódica, goma xantana, carragenina, sulfato de cálcio, trissódico fosfato, ácido cítrico e fosfato de sódio como tampões, emulsão antiespuma de dimeticona, metilparabeno e potássio sorbato (SYSTEMS, 2022).

3.2 Derivação farmacêutica

Na rotina hospitalar há muitos casos em que pacientes se apresentam incapazes de ingerir medicamentos via oral, possuem baixa adesão à terapia, ou ainda há casos em que não há a dosagem específica, como crianças. Assim, se faz necessária a realização de derivações farmacêuticas no âmbito hospitalar, ocorrendo a manipulação de produtos e transformando-os em outra forma farmacêutica (NUNES, 2020; GOBETTI, et al, 2021). Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), resolução que rege sobre as Boas Práticas de Manipulação em Farmácias, é permitida a realização de transformação ou derivação de medicamentos, definindo-a como “manipulação de especialidade farmacêutica visando o preparo de uma forma farmacêutica a partir de outra” (Anvisa, 2007)

Para os pacientes descritos acima, a farmácia hospitalar deve manipular uma forma farmacêutica específica garantindo que os parâmetros de eficácia e segurança do fármaco se mantenham. Isso ocorre através de buscas na literatura científica pelos farmacêuticos responsáveis (FARIA, 2020). No entanto, em alguns casos, não há relatos científicos ou se encontram defasados, tornando-se um risco prosseguir com o tratamento por não haver informações confiáveis sobre a biodisponibilidade, eficácia, estabilidade e/ou toxicidade do medicamento derivado (CALDERÓN-GUZMÁN et al., 2012; ROSA et al., 2014).

Uma das formas de derivação consiste em utilizar um medicamento na forma comercial sólida e transformá-lo em uma forma líquida, como preparar suspensões a partir de cápsulas. Esta forma farmacêutica líquida caracteriza-se pelo sólido permanecer insolúvel no meio líquido, formando sistemas dispersos. As suspensões devem atender a alguns requisitos: possuir pequenas partículas de tamanho uniformes, dispersas homogeneamente no veículo, haver lenta sedimentação das partículas e fácil redispersão quando agitado (THOMPSON, et. al., 2013).

As suspensões são uma alternativa amplamente utilizada, principalmente quando se trata de fármacos lipofílicos, os quais impossibilitam o desenvolvimento de soluções simples em meio aquoso pelo sólido não se encontrar dissolvido. No entanto, estas dispersões coloidais possuem estabilidade físico-química complexa e difícil de

ser atingida. Para tal, utiliza-se adjuvantes e veículos, devendo-se ter um olhar crítico para a escolha de quais irão compor a formulação a fim de preparar uma suspensão com os parâmetros de qualidade confiáveis (AULTON, 2016). Assim, associa-se informações teóricas com a experimental. Esta última é essencial para confirmar a estabilidade, segurança e eficácia da formulação, fazendo-se necessário, portanto, a realização de análises durante determinado período de tempo para garantir que as suspensões atendam aos requisitos desejados (GOBETTI, et al, 2021).

3.2.1 Derivação do tacrolimo e sua estabilidade

Existem escassas referências na literatura a respeito do preparo de tacrolimo extemporâneo e sua estabilidade. Há um relato sobre o estudo de estabilidade de uma solução de tacrolimo 0,3mg/mL para aplicação oftálmica utilizando Liquifilm (colírio). Esta foi mantida resfriada e congelada, observando um teor de tacrolimo próximo de 90% para ambos os casos, sem diferenças significativas durante o período de estudo (85 dias). Porém, ao ser armazenada a 25°C, a concentração de tacrolimo diminuiu para menos de 90% no dia 28 (EZQUER-GARIN, et. al., 2017). Outro estudo avaliou a biodisponibilidade do tacrolimo em suspensão utilizando o pó das cápsulas homogeneizados com água potável e adicionando a hidroxipropilmetilcelulose como adjuvante para melhorar a solubilidade do tacrolimo (UNDRE, 2017).

Quanto ao preparo de suspensões de tacrolimo há três modos sugeridos na literatura. Um deles consiste em retirar o pó do interior da cápsulas e em seguida adicionar xarope simples, realizando a homogeneização (CARVALHO, et al. 2012). Segundo Jacobson e colaboradores (1997) deve-se desenvolver o veículo misturando o xarope simples e um adjuvante chamado Ora-Plus® nas mesmas proporções. Em seguida, adiciona-se em partes este veículo para realizar primeiramente a levigação do pó das cápsulas e na sequência, acrescentar mais quantidades, homogeneizando, até atingir a concentração de 0,5mg/mL.

Outro modo segue conforme o Laboratório de Farmacotécnica da Universidade Federal do Ceará, no qual é possível utilizar metilcelulose como veículo acrescida de parabenos 0,1% e tampão (pH ajustável até 4 a 5). Apenas neste caso o prazo de

validade sugerido é de 30 dias. Para as suspensões descritas anteriormente foi demonstrado 56 dias de estabilidade físico-química em temperatura ambiente e ao abrigo da luz (CARVALHO, et al. 2012; JACOBSON, et al., 1997).

3.3 Suspensões: Função dos adjuvantes

Há descritos na literatura diversos adjuvantes que otimizam as características das suspensões, sendo eles: agente molhante, agente floculante, agente de consistência, conservante e flavorizantes. Os dois primeiros são fundamentais para a estabilidade física, reduzindo a tensão superficial entre sólido e líquido (fármaco e veículo) e aumentando a interação entre estas partículas de modo a evitar a formação de agregados e elevar a homogeneidade da formulação. Como agentes molhantes há glicerina, propilenoglicol, sorbitol, entre outros; já como floculantes encontram-se os tensoativos e os polietilenoglicóis (AULTON, 2016).

A glicerina e o propilenoglicol são os mais utilizados na rotina de farmácias de manipulação. Como benefícios, ambos possuem ação contra microrganismos, atuando em conjunto com outros conservantes. A diferença entre eles encontra-se no propilenoglicol possuir maior poder conservante e maior facilidade em solubilizar/dissolver moléculas hidrofóbicas. (THOMPSON, et. al., 2013).

O álcool ou etanol também é considerado um agente molhante ou co-solvente, permitindo que os sólidos hidrofóbicos interajam com o veículo aquoso da formulação. No entanto, há certos limites de uso quando envolve-se a população pediátrica por apresentarem dificuldade em metabolizar completamente este composto, tornando-o a última opção de uso. O sorbitol apresenta poder edulcorante e capacidade de alterar a viscosidade da formulação, além de atuar como umectante. (AULTON, 2016)

Polissorbato 80 (Tween® 80) e polietilenoglicóis apresentam a função de umectante descrita na literatura, porém são utilizados em menor frequência. Este primeiro adjuvante é um tensoativo e caracteriza-se como levemente tóxico se ingerido, envolvendo um limite em 3% da concentração de uso, para evitar malefícios e manter o efeito molhante. (THOMPSON, et. al., 2013). Quanto aos polietilenoglicóis, as moléculas de menor peso molecular (PEG 200, 400 e 600) são as mais comumente utilizadas, visto que apresentam-se na forma líquida, facilitando a manipulação e a

molhabilidade dos sólidos. Além disso, podem ser coadjuvantes potencializando a ação de estabilizadores de dispersões coloidais. (ROWE, et. al., 2009).

Quanto a toxicidade, os polietilenoglicóis apresentam alta tolerabilidade, inclusive para a população pediátrica, e baixos riscos de efeitos adversos, podendo ser utilizado como primeira escolha como ativo contra constipação crônica (PEG de maior peso molecular, sendo sólidos), se utilizado em maiores dosagens. Há alguns contrapontos relacionados com esta classe, sendo a interação com os conservantes da classe dos parabenos, bem como alguns possíveis efeitos adversos leves na população pediátrica com problemas renais (AULTON, 2016).

Outros adjuvantes importantes são os agentes de consistência. Estes podem estar presentes na formulação como veículo, caso dos xaropes simples, onde a viscosidade é decorrente da alta concentração de açúcar, a qual também permite melhor palatabilidade e segurança microbiológica; ou através de outros adjuvantes, como derivados da celulose (metilcelulose e hidroxipropilmetilcelulose, por exemplo). Além destes, há os conservantes que permitem uma segurança microbiológica mais ampla, usando-se principalmente os parabenos para tal função, e os flavorizantes almejam melhorar a adesão dos pacientes pelo sabor agradável destes compostos. (AULTON, 2016).

3.4 Co-validação

A validação de métodos analíticos é essencial para garantir que os resultados sejam fidedignos e confiáveis. Segundo a Anvisa, a validação analítica é definida como “avaliação sistemática de um método por meio de ensaios experimentais de modo a confirmar e fornecer evidências objetivas de que os requisitos específicos para seu uso pretendido são atendidos”. Para tanto, se fazem necessários adequar diversos parâmetros, sendo eles a seletividade do método, os limites de quantificação e detecção, a linearidade, precisão, exatidão e robustez (CGAL, SDA, 2011).

A validação pode ocorrer de dois modos, parcial ou total. Esta última ocorre quando não há descrição nas bases de dados a respeito de um método analítico confiável e reproduzível, exigindo do pesquisador o desenvolvimento completo.

Porém, muitos casos já existem monografias na literatura e em compêndios oficiais informando detalhadamente o método analítico a ser utilizado. Quando este caso ocorre, a validação se dá de modo parcial, exigindo, no mínimo, a análise da precisão, exatidão e seletividade.

- Seletividade: Caracteriza-se pelo método ser capaz de identificar o analito a quem de outros compostos presentes na formulação, como solventes, excipientes, impurezas, entre outros.
- Exatidão: Relaciona-se com a capacidade do método em obter resultados próximos ao verdadeiro, contando com valores de desvios menores possíveis para tornar-se um valor confiável.
- Precisão: Envolve a reprodutibilidade dos valores obtidos em diferentes análises ou alíquotas, na mesma concentração, podendo ser realizada intra-dia ou inter-dia, envolvendo em geral dois analistas ou dois equipamentos/laboratórios diferentes. (Anvisa, 2017)

No entanto, quando há um método analítico descrito e este é otimizado há a possibilidade de haver resultados estatísticos significativamente diferentes. A partir daí, originou-se o termo revalidação ou co-validação, que segundo a RDC 166 de 2017, é definido como “repetição parcial ou total da validação de um método analítico para assegurar que esse continua cumprindo com os requisitos estabelecidos”. Seguindo a mesma legislação, não há descrição dos parâmetros mínimos exigidos nos casos de co-validação dos métodos, sendo analisado dependendo da alteração realizada. Assim, considera-se os testes da validação parcial como sendo o mínimo exigido pela definição ser muito semelhante ao conceito da co-validação.

4 Materiais e Métodos

4.1 Fármaco e medicamento

O padrão secundário obtido para as análises foi adquirido através farmácia de manipulação Vida Animal - Farmácia Veterinária de Manipulação, sendo caracterizado como tacrolimo monoidratado. Foi apresentado o certificado de análise pela empresa

SM Empreendimentos Farmacêuticos LTDA, onde averiguou-se a pureza em 99,0% e considerou-se para os cálculos a umidade, cujo fator de correção foi 1,02.

O medicamento tacrolimo na forma de cápsulas de 5 mg foi obtido através do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, sendo distribuídos em blister de alumínio.

4.2 Soluções para análise

Para obter a solução estoque pesou-se 10 mg do padrão secundário de tacrolimo e adicionou-se em 10mL de acetonitrila (ACN - Supelco®), obtendo-se uma concentração de 1mg/mL. Quanto a solução amostra, seguiu-se o preparo da suspensão. Realizou-se o peso médio das cápsulas e em seguida a pesagem em balança analítica (AND®, modelo HM – 202) de equivalentes 50 mg das cápsulas de tacrolimo, seguindo para a trituração do pó. Após isso, foi levigado com 8% de polietilenoglicol 400 e adicionou-se o veículo, xarope simples, em quantidade suficiente para 50 mL, formando uma suspensão de 1mg/mL.

A solução estoque padrão e a amostra foram diluídas em fase móvel até 50 µg/mL, seguida de filtração, para as análises em CLAE.

4.3 Desenvolvimento da suspensão a partir das cápsulas

Foram analisados diferentes métodos de preparo e adicionados adjuvantes alternativos para adequar o teor do fármaco, sendo eles: com e sem trituração do sólido e presença ou ausência de agentes molhantes em diferentes proporções (tabela 1), como glicerina, propilenoglicol, polissorbato 80 e polietilenoglicol 400, sendo os mais comuns para tal fim e selecionados segundos dados da literatura.

De modo geral, o preparo seguiu a abertura das cápsulas e transferência do pó em gral de porcelana (1) seguida por trituração durante 30 segundos (2), inserção do agente molhante e homogeneização até correta levigação do pó (3). Após, foi transferido para um cálice realizando lavagens no gral com o veículo, xarope simples, (4) e por fim, o mesmo foi adicionado gradualmente até completar o volume necessário e atingir a concentração de 1mg/mL (5). A etapa 3 da formulação denominada “sem

agentes molhantes” e as etapas 2 e 3 da produção da suspensão caracterizada como “sem trituração” foram retiradas do processo.

Tabela 1. Preparo das formulações com as proporções de agentes molhantes.

Método/Agente Molhante	Proporção Agente Molhante
Sem Trituração	0
Com Trituração	
Glicerina	2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%
Propilenoglicol	4%, 10%, 25%
Poliétilenoglicol 400	4%, 6% e 8%
Tween 80	3%

4.4 Cromatografia líquida de alta eficiência

As análises de doseamento durante a estabilidade e para a co-validação foram realizadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) Shimadzu® LC-20^a Prominence CLAE-DAD. O método cromatográfico escolhido foi previamente desenvolvido e descrito em compendio oficial (USP, 2018), sendo citado na tabela abaixo:

Tabela 2. Condições cromatográficas

Coluna	C18 250-cm x 4,6-mm, 5- μ m (Luna Phenomenex®)
Fluxo	1,7 mL/min
Fase móvel	Acetonitrila:Água Ultrapura (Mili-Q®) (65:35)
Volume de Injeção	50 μ L
Temperatura	70°C
Tempo de análise	9 Minutos

4.4.1 Co-validação

A co-validação ou revalidação foi desenvolvida com o intuito de corroborar os resultados do método da Farmacopeia dos Estados Unidos (USP, 2018), descrito acima. Para tal, foram realizadas análises a respeito da exatidão, precisão e seletividade, sendo os parâmetros mínimos para validação parcial segundo a Anvisa (2017).

4.4.1.1 Seletividade

Para a seletividade foram pesados, em balança analítica (AND®, modelo HM – 202), os excipientes descritos na bula do medicamento, sendo eles hipromelose, croscamelose sódica, lactose monohidratada e estearato de magnésio. A concentração foi obtida através do Handbook of Pharmaceutical Excipients (Rowe e Sheskey, 2009), pela média das porcentagens utilizadas para a função do adjuvante específico em cápsulas. Após a pesagem, foram homogeneizados, triturados e levigados com polietilenoglicol 400 a 8%. Em seguida, adicionou-se o xarope simples previamente preparado no HCPA, contendo sacarose, metilparabeno e água.

Esta amostra de placebo foi diluída em fase móvel, filtrada e analisada em CLAE, comparando com o cromatograma do padrão previamente preparado.

4.4.1.2 Exatidão

A exatidão foi desenvolvida utilizando-se o modelo de adição de padrão. A amostra a 1mg/mL foi diluída em fase móvel até 60 $\mu\text{g/mL}$. Após retirou-se uma alíquota desta amostra diluída e adicionou-se em balão volumétrico para atingir a concentração de 30 $\mu\text{g/mL}$. Simultaneamente preparou-se a solução estoque de padrão a 1mg/mL.

Nos balões volumétricos contendo equivalente a 30 $\mu\text{g/mL}$ de tacrolimo, a partir da amostra, foram acrescentadas quantidades conhecidas de padrão, partindo da solução estoque, a fim de atingir três concentrações finais, baixa, média e alta, sendo elas 40 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$ e 60 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. As análises no CLAE foram

realizadas em triplicata. O padrão e a amostra também foram avaliados a 50 $\mu\text{g/mL}$ (concentração de trabalho).

4.4.1.3 Precisão

Este parâmetro foi desenvolvido em dois dias de análise e um analista diferente a fim de obter a precisão intermediária e a reprodutibilidade. O procedimento realizado para ambos os casos foi utilizar a suspensão de tacrolimo a 1mg/ml, obtida pelo HCPA, diluir com fase móvel até 50 $\mu\text{g/mL}$, filtrar e prosseguir a análise cromatográfica em sextuplicata. Para cada dia e analista preparou-se uma solução padrão estoque independente e realizou a diluição até 50 $\mu\text{g/mL}$ com fase móvel, também analisada em CLAE, porém utilizando triplicata.

4.4.2 Avaliação do teor do fármaco em suspensão

A partir das formulações desenvolvidas e descritas acima, na concentração de 1mg/mL, foi realizada uma diluição com fase móvel até atingir a concentração de 50 $\mu\text{g/mL}$. O mesmo ocorreu com a solução padrão estoque. Ambos os analitos foram filtrados e analisados em triplicata. Contendo as amostras e o padrão nas mesmas concentrações, prosseguiu-se com a análise em CLAE, comparando o resultado do padrão com cada formulação desenvolvida e obtendo o teor do fármaco em porcentagem.

4.5 Estudo de estabilidade da suspensão

Após a definição da formulação, foram passadas as informações detalhadas sobre o preparo da suspensão do tacrolimo ao HCPA. O hospital utilizou sua farmácia semi-industrial para preparar as amostras e em seguida repassá-las ao nosso grupo para a realização do estudo da estabilidade.

Esta etapa considerou-se os parâmetros mínimos exigidos pela legislação brasileira (RDC 318/2019), bem como testes realizados por outros autores que

desenvolveram estudos de estabilidade em diferentes fármacos preparados extemporaneamente (GOBETTI, et al, 2021; JACOBSON, et al., 1997). As análises seguiram 30 dias contemplando alguns parâmetros: aparência, teor do princípio ativo, pH, viscosidade e volume de sedimentação.

Os pontos das coletas ocorreram em triplicatas a cada 10 dias, iniciando no ponto zero até o trigésimo. O doseamento procedeu com 12 suspensões de 1mg/mL, sendo acondicionadas em temperatura ambiente (25°C a 35°C), e 9 formulações mantidas em estufa (Precision® - modelo 19) com temperatura controlada a 40°C. O teor do fármaco foi determinado utilizando as formulações fornecidas pelo HCPA e a solução estoque de padrão, ambas a 1mg/mL diluídas até 50 µg/mL em triplicata, e realizando a filtração para análise em CLAE. Comparou-se os cromatogramas do padrão e da amostra para obter o teor do fármaco.

As análises físico-químicas foram determinadas em 4 pontos com intervalos de 10 dias, juntamente com a averiguação do teor do fármaco. Três amostras foram submetidas à avaliação da viscosidade e do pH. Os equipamentos e suas condições de uso foram, respectivamente: viscosímetro de Oswald (Brookfield® modelo DV-1), 100 rotações por minuto e spindle 2; e pHmetro (Digimed®, modelo DM 22). Uma amostra foi utilizada para verificar o volume de sedimentação e as características organolépticas. Todas as suspensões preparadas para análise foram mantidas em ambiente com temperatura controlada e ao abrigo da luz, utilizando frascos PET âmbar como embalagem primária.

5 Resultados e Discussão

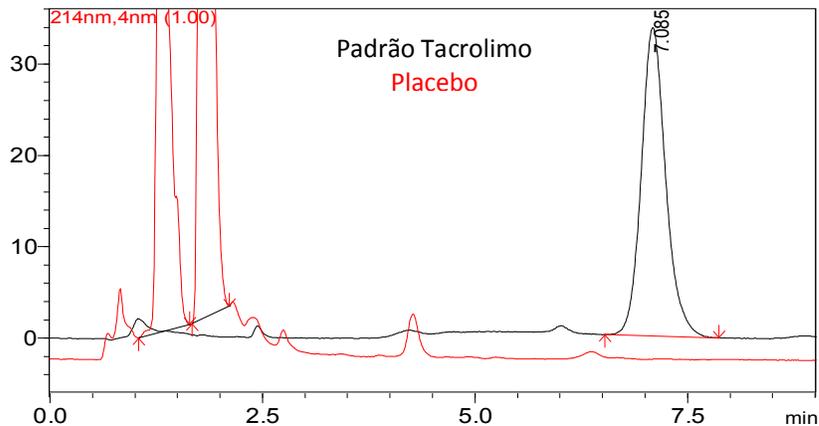
5.1 Co-validação

5.1.1 Seletividade

A seletividade buscou avaliar a capacidade do método diferir o fármaco dos demais compostos presentes, confirmando a ausência de interferentes provindo dos componentes da suspensão e/ou dos excipientes da cápsula na análise cromatográfica. Assim, conforme a figura abaixo, pode-se verificar que o método se

demonstrou seletivo, não havendo nenhum possível interferente no mesmo tempo da eluição do tacrolimo (cerca de 7 minutos).

Figura 2. Cromatograma demonstrando a seletividade do método.



5.1.2. Precisão

Na tabela abaixo constam os valores de DPR, os quais encontraram-se dentro dos limites recomendados, sendo 5% (Anvisa, 2003), tanto para a repetibilidade quanto a precisão intermediária, podendo-se confirmar que o método atinge valores próximos ao repetir as análises em dias e com analistas diferentes. Vale salientar que RDC atual que descreve os parâmetros analíticos não apresenta um valor limite, entretanto, a RDC anterior (Anvisa, 2003) destacava DPR < 5, sendo o mínimo a se basear.

Tabela 3. Resultados da precisão do método.

Repetibilidade	Média (%)	DPR (%)
Dia 1	106,0279	1,0960
Dia 2	101,1445	0,7785
Analista 2	96,3978	0,2337
Precisão Intermediária	103,5862	2,6260

5.1.3 Exatidão

Segundo a Farmacopeia Americana, para a exatidão os valores recomendados de tacrolimo em suspensão são 90 a 110% (USP, 2018). Este parâmetro se baseia em avaliar a capacidade do método em recuperar a maior porcentagem do fármaco possível, refletindo o valor do teor. A tabela 4 demonstra que este método farmacopeico atendeu a esse requisito, bem como apresentou baixos DPR, tornando o resultado confiável.

Tabela 4. Resultados da exatidão do método.

Nível – Concentração (µg/mL)	MÉDIA (%)	DPR (%)
Baixo – 40	102,56	0,0063
Médio – 50	102,21	0,0054
Alto – 60	100,12	0,0043

6 Desenvolvimento da suspensão

Para moléculas lipofílicas, o desenvolvimento de soluções simples acaba sendo impedido porque esta forma farmacêutica depende do sólido estar solúvel em um meio aquoso (BERMAR, 2014). Desta forma, considera-se o preparo das suspensões uma forma mais viável para produzir uma forma farmacêutica líquida, como de fato ocorria no HCPA. Durante a utilização das suspensões pelo HCPA, desenvolvidas unicamente com xarope simples e o fármaco, observaram-se casos de baixa eficácia terapêutica, sugerindo algum problema com a formulação, possivelmente baixa homogeneização durante a agitação e/ou instabilidade física.

Na literatura foram encontradas algumas suspensões de tacrolimo utilizando apenas xarope simples como veículo (CARVALHO, et al. 2012), podendo conter o adjuvante Ora-Plus® (USP, 2018; JACOBSON, et al., 1997), cuja durabilidade encontrava-se descrita em 56 dias. Outros autores mencionaram a formação de uma suspensão utilizando hidroxipropilmetilcelulose, sendo neste caso estudado apenas a biodisponibilidade do fármaco (UNDRE, 2017). Conforme o Laboratório de

Farmacotécnica da Universidade do Ceará é possível utilizar metilcelulose como veículo (2022), sendo sugerida a estabilidade de 30 dias.

Considerando a praticidade da rotina hospitalar e a questão econômica, torna-se inviável adquirir Ora-Plus®. Em virtude disso, é fundamental utilizar adjuvantes para desenvolver novas formulações mais simples, porém com eficácia e segurança equiparável. Vale salientar que as formulações líquidas tem como público alvo as crianças, para as quais o aspecto palatável é fundamental, levando ao xarope simples ser mais completo e prático para o caso, tornando a alteração do veículo não ser uma prioridade.

A partir disso, buscaram-se alternativas para melhorar a manipulação e reduzir os custos ao hospital, otimizando a eficácia, segurança e estabilidade das formulações, sendo através do uso de agentes molhantes. Assim, estes adjuvantes e suas proporções foram selecionadas de acordo com dados na literatura, envolvendo sua estabilidade química, baixa toxicidade via oral para população alvo (pediatria e pacientes com dificuldade de deglutir), bem como seu amplo uso em dispersões coloidais em farmácias de manipulação, incluindo magistrais e hospitalares.

Com os adjuvantes selecionados, seguiu-se a etapa para avaliar o teor do fármaco alternando as proporções dos agentes molhantes. Na tabela a seguir estão descritas as recuperações médias do fármaco em cada suspensão desenvolvida:

Tabela 5. Resultados do teor do fármaco em diferentes formulações

Formulação	Teor do Fármaco (%)	DPR
Sem Trituração	65,9410	14,725
Com Trituração	83,7360	14,4719
Glicerina 2%	80,9852	16,6450
Glicerina 3%	87,5571	7,5012
Glicerina 4%	90,0548	2,7147
Glicerina 5%	81,2206	8,0205
Glicerina 6%	84,8568	3,0976
Glicerina 7%	78,4217	14,9746
Propilenoglicol 4%	86,8121	3,4156

Tabela 5. Continuação: Resultados do teor do fármaco em diferentes formulações

Propilenoglicol 10%	92,6866	2,3693
Propilenoglicol 25%	92,3947	5,0599
Polietilenoglicol 400 4%	86,6946	2,7932
Polietilenoglicol 400 6%	86,7800	0,4293
Polietilenoglicol 400 8%	97,0420	2,0756
Tween 80 3%	88,28621	3,4903

As formulações avaliadas sem a presença dos agentes molhantes confirmou sua inviabilidade já prevista, recuperando apenas 65% do fármaco quando não foi utilizada a trituração do sólido e menos que 85% ao adicionar esta etapa na manipulação. Isso pode ser explicado pela molécula de tacrolimo ser insolúvel em água, desencadeando uma instabilidade física da formulação e consequente baixa homogeneização, confirmada pelos valores de DPR extremamente elevados. O aumento no valor do teor do fármaco entre estes dois esquemas de preparo possivelmente decorre da redução do tamanho de partícula do sólido através da força mecânica, permitindo maior contato do pó com o veículo, porém, não sendo o suficiente para estabilizar a suspensão.

Quando adiciona-se a glicerina pode-se perceber uma melhora nos resultados até atingir um platô, onde o teor se mantém constante mesmo ao aumentar a proporção de glicerina. Entre 2 a 4% há um aumento em 10% no teor obtido, e baixo desvio; no entanto, após utilizar a proporção de 5% a variabilidade aumenta e a recuperação reduz praticamente 10%. Para a quantidade máxima testada de glicerina (7%), o teor encontrou-se abaixo de 80%.

O propilenoglicol foi utilizado em três proporções, sendo a menor delas para fins comparativos com a glicerina e as demais seguindo a recomendação de concentração de uso para tal função. A glicerina e o propilenoglicol em 4% (figura 3) possuem uma diferença na recuperação próxima a 5%, sendo a glicerina com melhor resultado, e os desvios estão com resultados semelhantes. Para as demais proporções de propilenoglicol, visualiza-se o teor do fármaco acima de 92%. No entanto, conforme a figura 4, identificou-se uma dificuldade do método ser seletivo

nas proporções de 10 e 25%, possivelmente envolvendo alguma interação adjuvante-tacrolimo-coluna. Este fato, torna o resultado do teor não confiável.

Figura 3. Cromatograma da suspensão com propilenoglicol 4%.

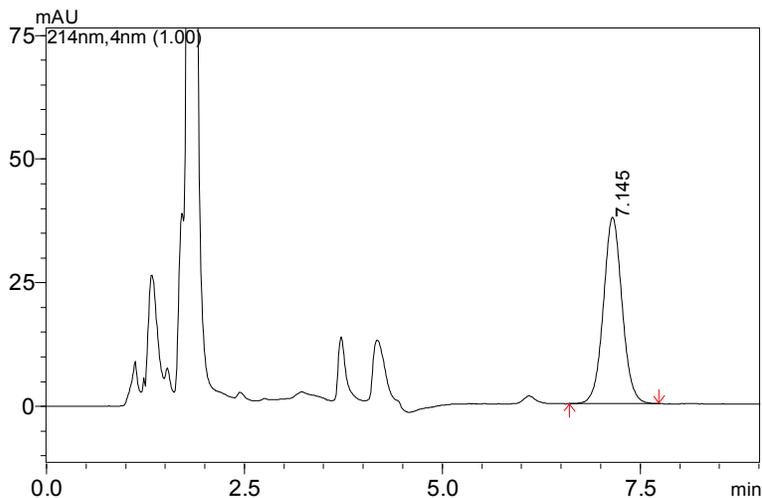
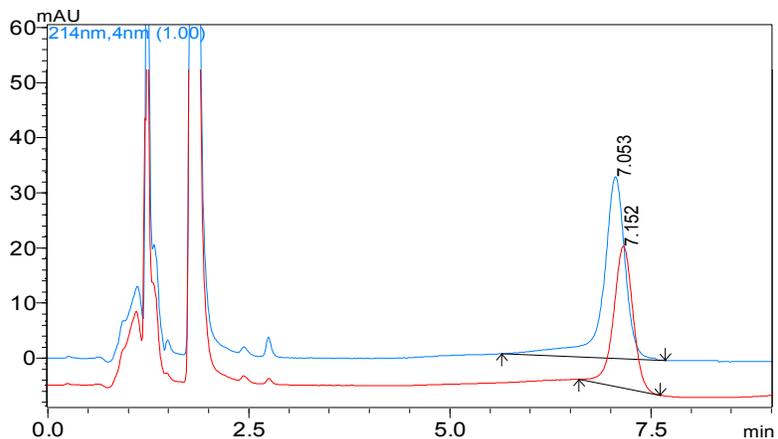
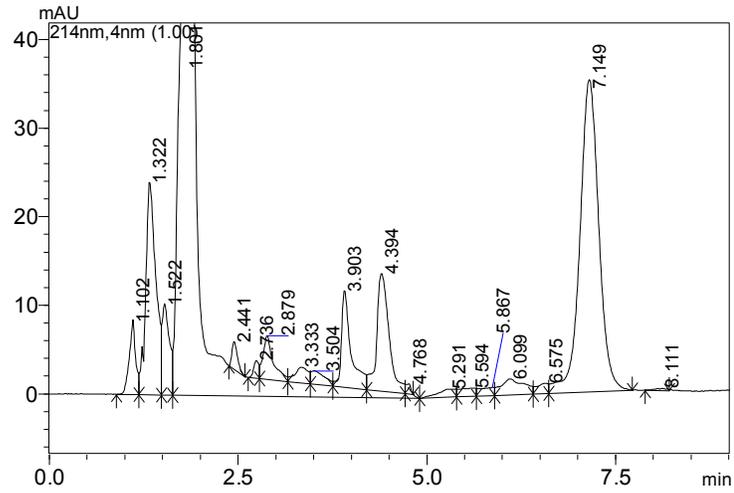


Figura 4. Comparação dos cromatogramas da suspensão com propilenoglicol 10% (azul) e 25% (vermelho).



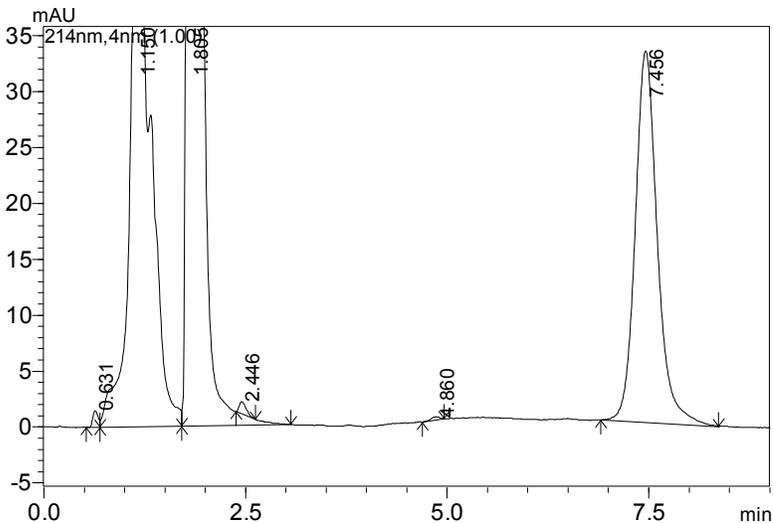
Um tensoativo também foi utilizado, considerando seu uso máximo permitido via oral, 3%. Assim, analisou-se apenas uma formulação com o Tween 80® para averiguar a efetividade na recuperação do fármaco. Pode-se observar que o teor obtido encontrou-se muito próximo da glicerina, porém, sem atingir 90%. Além disso, como ocorreu com o caso do propilenoglicol a 10 e 25%, o método não apresentou seletividade para a análise do tacrolimo, conforme observado no cromatograma abaixo.

Figura 5. Cromatograma da suspensão com Tween 80® em 3%



Por fim, outro adjuvante testado foi o polietilenoglicol 400 (figura 6), cuja proporção inicial em 4% foi baseada no melhor resultado de outro agente molhante, a glicerina. Pode-se perceber que não houve diferença significativa na recuperação do fármaco entre as proporções 4% e 6%. No entanto, observou-se melhores resultados com 8% de polietilenoglicol 400, tanto para a recuperação do fármaco, aproximando-se dos 100%, quanto para o DPR, encontrando-se abaixo de 5. Considerando-se uma suspensão, pode-se afirmar que a maior dificuldade encontrada está voltada para a estabilidade física e portanto homogeneidade de dose, tornando o DPR um fator fundamental para a escolha do agente molhante, em conjunto com o teor do fármaco.

Figura 6. Cromatograma da suspensão com polietilenoglicol 8%



7 Estudo de estabilidade

Por se tratar de uma derivação farmacêutica, as quais não exigem um prazo de validade longo e, levando em consideração os dados da literatura, as análises foram desenvolvidas contemplando 30 dias. Segundo a RDC 67 de 2007, formulações extemporâneas individualizadas e sob prescrição médica tem período de uso até 48 horas após sua manipulação. As formulações preparadas foram mantidas em frascos PET âmbar. A escolha pelo frasco de plástico se torna viável por não haver evidências de fortes interações entre a composição do frasco e a formulação como um todo, bem como pelo custo reduzido e praticidade na rotina hospitalar, visto que apresenta menores chances de quebrar e gerar algum acidente. Frascos âmbar foram utilizados por haver indícios do tacrolimo ser fotossensível, tornando essencial sua proteção à luz.

7.1 Parâmetros físico-químicos

O tacrolimo manteve íntegras suas características organolépticas durante todo o estudo, caracterizando-se como uma suspensão de coloração esbranquiçada e viscosa com pequenas partículas sólidas suspensas. O volume de sedimentação nos primeiros 20 dias apresentou valor abaixo de 1 mL e conservou-se também a presença de pequenas partículas suspensas no meio da formulação. No entanto, no trigésimo dia de avaliação, o volume de sedimentação aumentou consideravelmente atingindo em torno de 3 mL. Observou-se a formação de cristais, provavelmente de açúcar, tanto no fundo da proveta como no entorno das paredes desta vidraria. Isso sugere uma possível interação entre os excipientes da cápsula e a sacarose, levando a uma redução da solubilidade da sacarose, visto que está na concentração de saturação para formar o xarope simples.

Conforme as tabelas e os gráficos abaixo, todas as formulações apresentaram a mesma variação, ocorrendo uma flutuação nos valores do pH durante 30 dias armazenadas, porém se mantiveram com pH neutro, entre 5,0 a 7,0. Além disso, os valores se mantem muito próximos com o pH de estabilidade do fármaco, sendo relatado na literatura em pH ácido (<7), sendo que em solução foi preparado utilizando

solução tampão de fosfato de sódio 6,8 (MOREIRA, 2011). Já a viscosidade, observou-se uma leve queda nos valores durante os 20 primeiros dias. No trigésimo dia de armazenamento ocorreu um decaimento mais acentuado, em torno de 30 cP, porém se manteve acima de 200 cP e durante a análise o torque do equipamento continuou adequado.

Sendo assim, não houve alterações significativas nos parâmetros físico-químicos da formulação, podendo ser caracterizada, quanto a estes parâmetros, como estável durante 30 dias de armazenamento à temperatura ambiente e ao abrigo da luz.

Tabela 6. Resultados da viscosidade da formulação durante 30 dias.

Dias	0	10	20	30
Amostra 1	266,6	277,0	255,8	224,2
Amostra 2	282,2	265,0	253,0	220,2
Amostra 3	284,2	262,6	259,8	215,4
Média	277,67	268,2	256,2	219,9

Tabela 7. Resultados do pH da formulação durante 30 dias.

Dias	0	10	20	30
Amostra 1	5,86	6,83	6,00	6,27
Amostra 2	6,16	6,42	5,88	6,25
Amostra 3	6,25	6,30	6,00	6,12
Média	6,09	6,52	5,96	6,20

Figura 7. Gráfico contendo a média da viscosidade da formulação durante 30 dias.

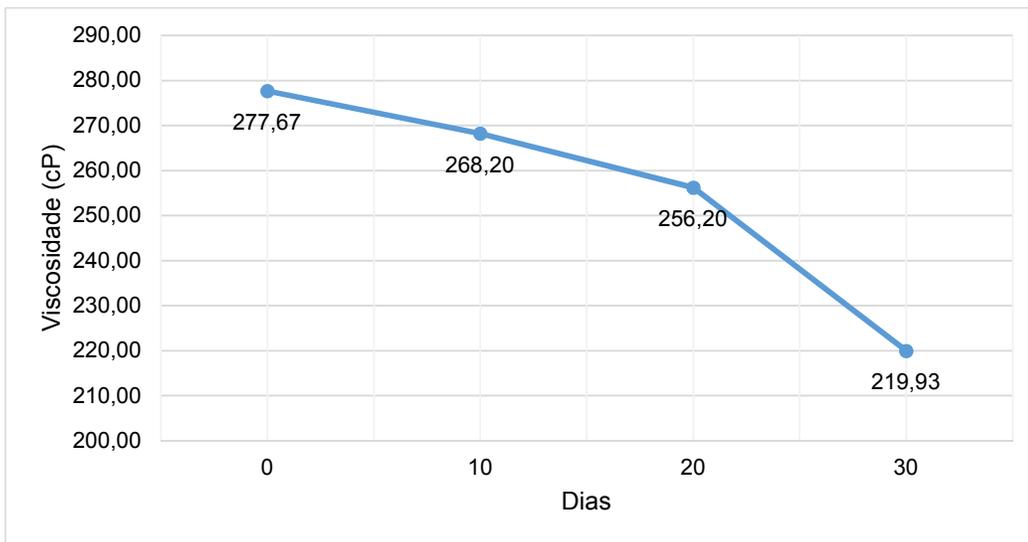
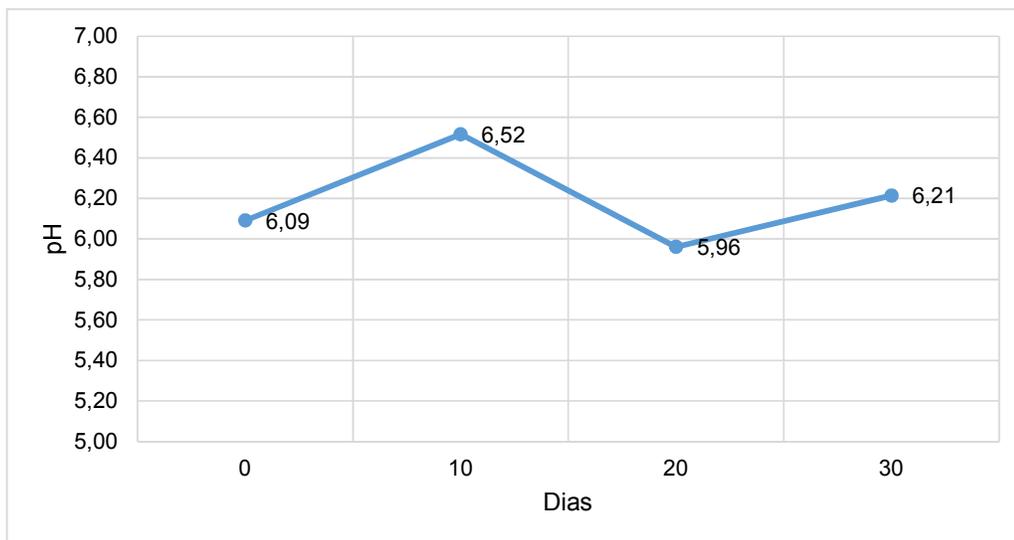


Figura 8. Gráfico contendo a média do pH da formulação durante 30 dias.



7.2 Doseamento

Conforme a primeira tabela abaixo, pode-se observar um decaimento de 4% em média do teor de tacrolimo durante o armazenamento em temperatura ambiente nos vinte primeiros dias, porém, mantendo-se dentro do preconizado pela

Farmacopeia Americana, sendo acima de 90%. O mesmo ocorreu com o DPR que elevou-se, mas ainda se manteve dentro dos limites. Portanto, de modo geral, o fármaco continuou íntegro durante os trinta dias de armazenamento em temperatura ambiente ao abrigo da luz e calor.

Quando o tacrolimo em suspensão foi submetido a análise após armazenamento em 40°C, a tabela 9 demonstra um decaimento de teor do fármaco, sendo em média de 7% a cada coleta realizada. No décimo dia, o teor se manteve dentro do limite preconizado, 90%. Porém, no vigésimo dia de análise, atingiu 87%. Assim, pode-se afirmar que este fármaco é considerado termossensível, sendo fundamental seu armazenamento em temperaturas mais brandas.

Outro fator importante encontra-se no aumento da recuperação do fármaco em ambas as condições de armazenamento entre o dia 20 e 30. Pode-se notar que houve uma elevação em 2% no teor para o armazenamento a temperatura ambiente e 4% aos armazenados a 40°C. Há duas hipóteses que podem explicar este fato. Uma delas caracteriza-se na complexidade do preparo e da análise das suspensões, tornando esses valores baixos não significativos estatisticamente, decorrentes da variação analítica. A outra hipótese é a possível formação de produtos de degradação ou subprodutos derivados de uma interação entre os componentes da formulação e o tacrolimo, que possam estar eluindo com o fármaco, não sendo possível a sua visualização por conta do método estabelecido não ser capaz de separar estes compostos do tacrolimo e portanto, aumentando a área do pico do analito.

Ao unir todas as informações obtidas através da análise da estabilidade do tacrolimo em suspensão, resumidas nas tabelas e gráfico, pode-se afirmar que apresenta estabilidade físico-química adequada durante 30 dias e nas condições de armazenamento brandas, ao abrigo da luz, calor e umidade. A viscosidade, pH, volume de sedimentação e o teor do fármaco se mantiveram adequados durante todo o período de análise, observando-se apenas um decaimento de teor abaixo dos limites exigidos ao expor a formulação à condições de estresse.

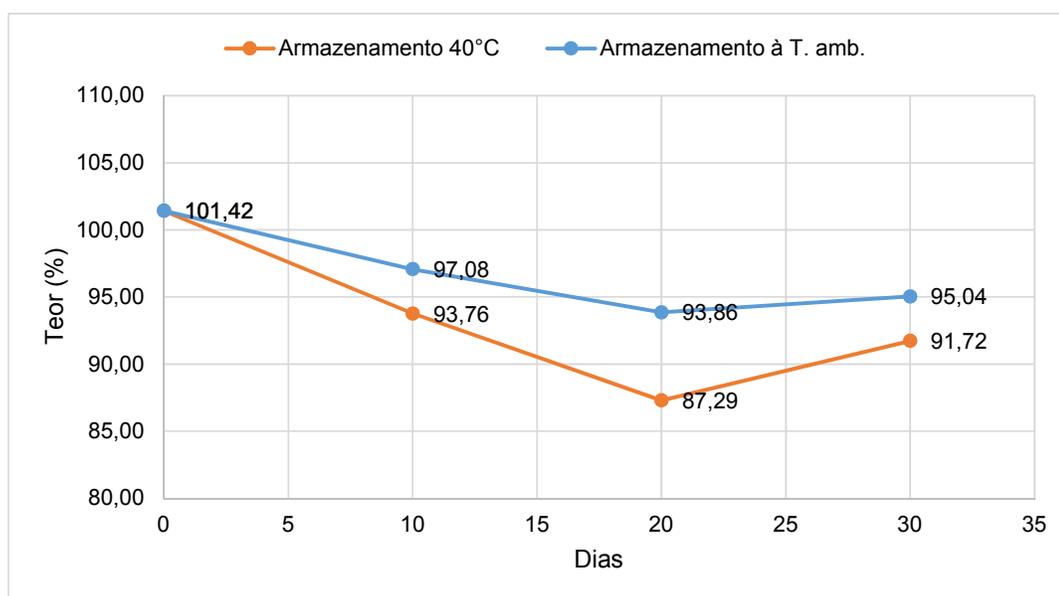
Tabela 8. Resultados da estabilidade em temperatura ambiente.

Ponto de Coleta (Dia)	Teor do Fármaco (%)				DPR
	1	2	3	Média	Média
0	99,93	102,61	101,71	101,42	2,19
10	96,34	99,27	95,62	97,08	3,41
20	95,37	89,60	96,61	93,86	4,38
30	98,89	96,99	89,23	95,04	4,81

Tabela 9. Resultados da estabilidade durante o armazenamento a 40°C.

Ponto de Coleta (Dia)	Teor do Fármaco (%)				DPR
	1	2	3	Média	Média
0	99,93	102,61	101,71	101,42	2,19
10	89,29	99,582	92,42	87,29	5,40
20	90,36	87,21	84,31	93,76	5,03
30	91,33	90,33	93,51	91,72	5,96

Figura 9. Gráfico contendo o teor médio do tacrolimo durante 30 dias nas duas condições de armazenamento.



8 Conclusão

Este trabalho objetivou prever a estabilidade de uma formulação desenvolvida de modo simples e prático para equipar a rotina do HPCA. O método para o desenvolvimento das análises foi co-validado, confirmando sua exatidão, precisão e especificidade. A partir disso, foi possível planejar uma derivação para o tratamento em pacientes transplantados com as cápsulas de tacrolimo formando uma suspensão e identificar um agente molhante na sua proporção ideal.

A formulação se manteve estável durante os trinta dias de análise em temperatura ambiente, ao abrigo da luz e do calor, obtendo-se valores de teor acima do limite exigido (90%), bem como mantendo a integridade das características físico-químicas, incluindo pH neutro, viscosidade acima de 200 cP e volume de sedimentação baixo. Estes fatos corroboram com alguns dados da literatura, nos quais apresentam uma estabilidade de 56 dias, porém utilizando formulações mais complexas. No entanto, o fármaco demonstrou certa sensibilidade a temperaturas elevadas, obtendo-se teor abaixo do preconizado, sendo portanto essencial seu armazenamento adequado para manter suas características e evitar a degradação.

Concluindo, a formulação desenvolvida pode ser utilizada para o tratamento em pacientes que não conseguem deglutir o tacrolimo, sendo viável de ser produzida e apresentando eficácia e segurança durante no mínimo 30 dias. No entanto, vale salientar a necessidade de maiores estudos quanto aos possíveis produtos de degradação e sua toxicidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anvisa. RDC nº 166 de 24 de julho de 2017. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, 24 jul. 2017.
- Anvisa. RDC nº 67 de 8 de outubro de 2007. Aprovar o Regulamento Técnico sobre Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiniais para Uso Humano em farmácias e seus Anexos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, 09 out. 2007.
- Anvisa. RDC nº 899 de 29 de maio de 2003. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, 29 maio 2003.
- AULTON, Michael E., TAYLOR, Kevin, M. G.. Aulton Delineamento de Formas Farmacêuticas. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda., 2016. 824 p.
- BERMAR, Kelly Cristina de Oliveira. Farmacotécnica: técnicas de manipulação de medicamentos. São Paulo: Editora Érica, 2014. 137 p
- Carvalho, Paulo R., A. et al. Medicamentos de A a Z: Pediatria. Disponível em: Minha Biblioteca, Grupo A, 2012.
- DRUGBANK. Tacrolimus. 2021. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00864>. Acesso em: 22 dez. 2021.
- DRUGS.COM. Tacrolimus: oral and injection. 2021. Disponível em: <https://www.drugs.com/mtm/tacrolimus-oral-and-injection.html>. Acesso em: 22 dez. 2021.
- EZQUER-GARIN, Carlos; FERRIOLS-LISART, Rafael; ALÓS-ALMIÑANA, Manuel. Stability of tacrolimus ophthalmic solution. American Journal of Health-System Pharmacy, v. 74, n. 13, p. 1002-1006, 2017.
- FARIA, Caroline de, O. et al. Farmácia Hospitalar. Grupo A, 2020.
- GOBETTI, Caren et al. Evaluation of physicochemical and microbiological stability of liquid preparation from tizanidine hydrochloride tablets - a Hospital concern. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 57, 2021.
- INFINITY PHARMA. Tacrolimus Imunossupressor: Informações técnicas. São Paulo, atualizado em: 15/01/2021. Disponível em: <https://infinitypharma.com.br/wp-content/uploads/2021/01/Tacrolimus-Vet.pdf>. Acesso em: 10/01/2022.

JACOBSON, Pamala A. et al. Stability of tacrolimus in an extemporaneously compounded oral liquid. American journal of health-system pharmacy, v. 54, n. 2, p. 178-180, 1997.

Laboratório de Farmacotécnica. Tacrolimus. Universidade Federal do Ceará. Disponível em: <https://farmacotecnica.ufc.br/pt/farmatec/secao-1/liquidos-orais/t/tacrolimus/>. Acesso em: 21 jan. 2022.

LULMANN, Heinz, et. al.. Farmacologia: texto e atlas. 7. ed. São Paulo: Artmed Editora Ltda, 2017. Tradução por Augusto Langeloh

MOREIRA, Marlus et al. Ação do tacrolimus na pancreatite aguda experimental induzida pela arginina. Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões, v. 38, p. 260-265, 2011.

NUNES, Michelle S. Guia de boas práticas em farmácia hospitalar 2ª ed.. Editora Manole, 2020.

PRAMAR, Yashoda V. et al. Physicochemical and Microbiological Stability of Compounded Metronidazole Suspensions in PCCA SuspendIt. International journal of pharmaceutical compounding, v. 25, n. 2, p. 169, 2021.

PUBCHEM. Tacrolimus. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tacrolimus#section=2D-Structure>. Acesso em: 17:01/2022.

PURIFARMA. Tacrolimus: laudo de fornecedor. São Paulo. Disponível em: http://www.purifarma.com.br/Arquivos/Produto/TACROLIMUS_NOVA%20LITERATURA.pdf. Acesso em: 10/01/2022.

RAMOS, Alessanda Fernandes Louzada Hoegemann. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL EMBRIOTÓXICO DO TACROLIMUS (FK506) ADMINISTRADO A RATAS WISTAR. 2007. 81 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2007.

ROSA, Aline Marques et al. Quality and stability of oral extemporaneous formulations developed from commercial tablets containing spironolactone. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, v. 35, n. 3, 2014.

ROWE, R. C., SHESKEY, P. J., Quinn, M. E., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6th ed. Pharmaceutical Press, Berlin, Germany, 2009

Secretaria de Defesa Agropecuária - CGAL e Coordenação Geral de Apoio Laboratorial - SDA. Guia de Validação e Controle de Qualidade Analítica: fármacos

em produtos para alimentação animal e medicamentos veterinários. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2011.

SYSTEMS, Medical Flavouring. Ora-Plus®. Disponível em: <https://medicalfs.net.au/products/ora-plus>. Acesso em: 17 jan. 2022.

THOMPSON, J.E.; DAVIDOW, L.W. A prática farmacêutica na manipulação de medicamento. 3 ed. Artmed, 752 p., 2013.

UNDRE, Nasrullah; DICKINSON, James. Relative bioavailability of single doses of prolonged-release tacrolimus administered as a suspension, orally or via a nasogastric tube, compared with intact capsules: a phase 1 study in healthy participants. *BMJ open*, v. 7, n. 4, p. e012252, 2017.

United States Pharmacopeial (USP): Official Monographs. Tacrolimus: tacrolimus compounded oral suspension. United States Of America: Copyright, 2018. p. 3914-3915.

WALLER, Derek G, SAMPSON, Anthony P.. Farmacologia médica e terapêutica; tradução e revisão técnica Alana Witt Hansen [et al.]. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2019.

WOLLENBERG, A. et al. ETFAD/EADV Eczema task force 2020 position paper on diagnosis and treatment of atopic dermatitis in adults and children. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, v. 34, n. 12, p. 2717-2744, 2020.

YU, Meng et al. Pharmacokinetics, pharmacodynamics and pharmacogenetics of tacrolimus in kidney transplantation. *Current drug metabolism*, v. 19, n. 6, p. 513-522, 2018.