



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

FLAVIO RODRIGUES LOPES FILHO

**DESENVOLVIMENTO DE FORMA FARMACÊUTICA LÍQUIDA DE
MICOFENOLATO DE MOFETILA PARA ADMINISTRAÇÃO ATRAVÉS DE
SONDAS**

FORTALEZA

2023

FLAVIO RODRIGUES LOPES FILHO

DESENVOLVIMENTO DE FORMA FARMACÊUTICA LÍQUIDA DE MICOFENOLATO
DE MOFETILA PARA ADMINISTRAÇÃO ATRAVÉS DE SONDAS

Trabalho apresentado ao Curso de Mestrado em Ciências Farmacêuticas do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Farmácia Clínica e Vigilância Sanitária.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Marta Maria de França Fonteles

Co-orientador: Prof. Dr. Said Gonçalves da Cruz Fonseca

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- F498d Filho, Flavio Rodrigues Lopes.
Desenvolvimento de forma farmacêutica líquida de micofenolato de mofetila para administração através de sondas : Flavio Rodrigues Lopes Filho / Flavio Rodrigues Lopes Filho. -- 2023.
77 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Fortaleza, 2023.
Orientação: Profa. Dra. Marta Maria de França Fonteles.
Coorientação: Prof. Dr. Saíd Gonçalves da Cruz Fonseca.
1. Nutrição enteral. 2. Vias de administração de medicamentos. 3. Imunossuppressores. 4. Suspensões. 5. Ácido micofenólico. I. Título.

CDD 615

FLAVIO RODRIGUES LOPES FILHO

DESENVOLVIMENTO DE FORMA FARMACÊUTICA LÍQUIDA DE MICOFENOLATO
DE MOFETILA PARA ADMINISTRAÇÃO ATRAVÉS DE SONDAS

Trabalho apresentado ao Curso de Mestrado em Ciências Farmacêuticas do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Farmácia Clínica e Vigilância Sanitária.

Aprovada em: ___ / ___ / ____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Marta Maria de França Fonteles (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Said Gonçalves da Cruz Fonseca (Co-orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Tiago Lima Sampaio
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr^ª. Milena Pontes Portela Beserra
Hospital Universitário Walter Cantídio

Dr^ª. Maria Aparecida Alexandre Josino
Centro Universitário Maurício de Nassau

Dedico este trabalho à minha família, meus amigos, colegas de trabalho, professores e, principalmente, aos pacientes que irão obter benefícios deste estudo.

AGRADECIMENTOS

- Agradeço a Deus por ter me dado forças, coragem e inteligência para não desistir dos meus propósitos e sempre me mostrou as formas de seguir meus caminhos.
- Agradeço à minha família, aos meus pais, Dulcimeire e Flávio, pelos anos depositados em mim de confiança e pelos esforços que foram em mim investidos, além dos sacrifícios que fizeram em prol de todos seus filhos.
- Agradeço às minhas irmãs e meu irmão, Loyane, Flávia e Yuri, por serem meus parceiros e conseguirem tornar a caminhada da vida mais leve e alegre.
- Agradeço ao meu esposo, amigo, parceiro, um dos principais incentivadores dos meus sonhos e que sempre coloca frases positivas e verdadeiras nos meus dias, tentando impulsionar minha trajetória. Muito obrigado pelo incentivo, pela divisão das responsabilidades e por dividir os pesares comigo, tenho muita sorte de ter você ao meu lado em momentos importantes, como esse.
- Agradeço aos meus amigos, principalmente, Auricia, Ingrid, Priscila, Pedro, Natália, Leonara, Hugo pela amizade sincera, pelos risos e ajuda constante. Agradeço também aos colegas de trabalho, Luma, Nayanne, Evandro que sempre se fizeram presentes me incentivando. Agradeço em especial à Mikele pelo seu carinho, cuidado, atenção, destreza, leveza e sabedoria em me guiar, me orientar, me incentivar e principalmente abrir portas para que eu conseguisse meus objetivos. Serei eternamente grato por suas atitudes durante esse processo.
- Agradeço aos meus colegas de laboratório, Alberto, Gabriel, Jeferson, Letícia, Aparecida, por todo auxílio nos processos que foram desenvolvidos ao longo desses anos e pelas boas conversas no laboratório, entre os experimentos.
- Agradeço ao Prof. Said por todo seu esforço, auxílio, diálogos, correções, por me incentivar e desenvolver habilidades em mim, que não sabia que continha. Obrigado por ter me proporcionado esses momentos de aprendizagem, por ter me alertado durante os percalços e por contagiar por essa vontade e destreza por ensinar. Agradeço à Deus por tê-lo colocado em meu caminho e pelas trocas que tivemos ao longo dessa trajetória. Um dos maiores exemplos de ser humano.
- Agradeço a Profa. Marta pela oportunidade e por ter me auxiliado nesse desafio, pelas trocas, por sempre ter me dado forças e coragem para conseguir meus objetivos, pelas orientações, pelas exigências, pelas conversas e por ter contribuído com seu amor pela arte de ensinar.

- Agradeço a presença da banca pela disponibilidade, à Milena, Tiago e Aparecida e pela confiança e exemplo depositados.
- Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por auxiliarem no crescimento da pesquisa e da ciência no Brasil.

“Sem sonhos, a vida não tem brilho. Sem metas, os sonhos não têm alicerces. Sem prioridades, os sonhos não se tornam reais. Sonhe, trace metas, estabeleça prioridades e corra riscos para executar seus sonhos. Melhor é errar por tentar do que errar por omitir.” (Augusto Cury)

RESUMO

Atualmente a administração de medicamentos por sondas ainda exige aprimoramentos, devido a falta de estudos científicos que evidenciem a segurança e eficácia da utilização de fármacos por essa via, existindo um desafio frequente relacionados a falta de formas farmacêuticas padronizadas compatíveis para essa administração. O imunossupressor micofenolato de mofetila (MMF) é utilizado principalmente em terapias pós-transplantes hepáticos e renais, porém não é comercializada no Brasil, forma farmacêutica líquida desse fármaco. Considerando a necessidade de obter formulações com estabilidade e seguras para realizar a administração por essa via, o objetivo deste trabalho foi desenvolver uma suspensão para administração em sondas contendo micofenolato de mofetila. Inicialmente foi realizada a identificação por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) utilizando o pó obtido dos comprimidos, em comparação com a substância química de referência (SQR), juntamente com a validação da fase móvel escolhida para o andamento do estudo. Posteriormente os parâmetros críticos do processo (PCP) do método analítico foram avaliados, como precisão, exatidão, linearidade, seletividade, limite de detecção e de quantificação. O veículo nomeado “GUTE” utilizado para o preparo da suspensão foi avaliado quanto ao seu pH e adição de eletrólitos e como afetariam o comportamento reológico. Para o preparo das suspensões, foi realizado a avaliação do peso médio dos comprimidos, posteriormente foi realizada a trituração e agitação destes no veículo. Com as suspensões formadas foram realizados os ensaios de características organolépticas, doseamento, viscosidade, pH, densidade e microscopia, acompanhando as suspensões em temperatura ambiente (até 25°C) por 70 dias e em temperatura refrigerada (2 a 8°C) por 63 dias. As amostras apresentaram estabilidade físico-química dos parâmetros de pH, densidade e viscosidade, principalmente, a amostra refrigerada. O teor do fármaco obteve resultado igual a 83,1% da amostra após 28 dias armazenado em temperatura ambiente, enquanto em temperatura refrigerada apresentou 86,46% após os 63 dias. Em avaliação experimental de passagem da suspensão por sonda nasoenteral (SNE) e nasogástrica, a suspensão obteve maior recuperação de fármaco após administração por SNE. Os resultados de cinética de degradação perante a suspensão para o teor e viscosidade por cálculo de ordem dois, o prazo de validade foi igual a 26 dias de estabilidade em temperatura ambiente, sendo plenamente possível seu uso hospitalar.

Palavras-chave: Nutrição enteral; Vias de administração de sondas; Imunossupressores; Suspensões; Ácido micofenólico.

ABSTRACT

Currently, the administration of drugs through tubes still requires improvements, due to the lack of scientific studies that demonstrate the safety and efficacy of using drugs through this route, with a frequent challenge related to the lack of standardized pharmaceutical forms compatible with this administration. The immunosuppressant mycophenolate mofetil (MMF) is mainly used in post-liver and kidney transplant therapies, but the liquid pharmaceutical form of this drug is not sold in Brazil. Considering the need to obtain stable and safe formulations to perform administration by this route, the objective of this work was to develop a suspension for administration in tubes containing mycophenolate mofetil. Initially, the identification was performed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) using the powder obtained from the tablets, in comparison with the reference chemical substance (SQR), together with the validation of the mobile phase chosen for the progress of the study. Subsequently, the critical process parameters (PCP) of the analytical method were evaluated, such as precision, accuracy, linearity, selectivity, limit of detection and quantification. The vehicle named "GUTE" used to prepare the suspension was evaluated for its pH and electrolyte addition and how they would affect the rheological behavior. For the preparation of the suspensions, the average weight of the tablets was evaluated, after which they were crushed and stirred in the vehicle. With the suspensions formed, assays of organoleptic characteristics, dosage, viscosity, pH, density and microscopy were carried out, accompanying the suspensions at room temperature (up to 25° C) for 70 days and at refrigerated temperature (2 to 8° C) for 63 days. The samples presented physical-chemical stability of the parameters of pH, density and viscosity, mainly, the refrigerated sample. The drug content obtained a result equal to 83.1% of the sample after 28 days stored at room temperature, while at refrigerated temperature it presented 86.46% after 63 days. In an experimental evaluation of passing the suspension through a nasoenteral (NET) and nasogastric tube, the suspension obtained greater drug recovery after administration through the NET. The results of degradation kinetics before the suspension for the content and viscosity by calculation of order two, the validity period was equal to 26 days of stability at room temperature, being fully possible its hospital use.

Keywords: Enteral nutrition; Drug administration routes; immunosuppressive agents; Suspensions; Mycophenolic acid;

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Estruturas moleculares do pró-fármaco, micofenolato de mofetila (A) e do fármaco, ácido micofenólico (B).....26
- Figura 2 - Análise microscópica dos cristais com aumento de 20 vezes (1A) e 40 vezes (1B), sob aumento de câmera digital não quantificado.....45
- Figura 3 - Cromatograma representativo de solução de micofenolato de mofetila – pó obtido, (A) sob condições de análises: metanol e ácido fosfórico 0,05% (55:45), em uma coluna C18 a 45°C e utilizando $\lambda = 250$ nm, com fluxo de 1,5 mL/min. (B) acetonitrila e trietilamina 1% pH 3,0 (30:70), fluxo 1,5 ml/min, coluna C-18 a 45 °C e detecção em λ 250 nm.....46
- Figura 4 - Cromatograma representativo da solução de micofenolato de mofetila-SQR, sob condições de análise: metanol e ácido fosfórico 0,05% (55:45), em uma coluna C18 a 45°C e λ 250 nm, com fluxo de 1,5 mL/min, em uma concentração de 108 $\mu\text{g/mL}$47
- Figura 5 - Cromatograma representativo da solução de micofenolato de mofetila padrão utilizado no estudo de COSTA (2009), sob condições de análise: acetonitrila e trietilamina 1% pH 3,0 (30:70), em uma coluna C8 a 45°C e λ 250 nm, com fluxo de 1,5 mL/min.....47
- Figura 6 - Representação gráfica da curva analítica das soluções de MMF-SQR em concentrações de 6,25 a 100 $\mu\text{g/mL}$48
- Figura 7 - Representação gráfica da curva analítica das soluções de pó obtido de MMF em concentrações de 50 a 175 $\mu\text{g/mL}$49
- Figura 8 - Cromatograma da degradação alcalina após 1 hora sob 60°C do MMF- pó extraído, solução de 100 $\mu\text{g/mL}$. Condições de análise: metanol e ácido fosfórico 0,05% 55:45 (v/v) em uma coluna C-18 a 45°C e utilizando $\lambda = 250$ nm, com fluxo de 1,5 mL/min.....50
- Figura 9 - Cromatograma da degradação oxidativa do MMF- pó extraído, solução de 100 $\mu\text{g/mL}$. Condições de análise: metanol e ácido fosfórico 0,05% 55:45 (v/v) em uma coluna C-18 a 45°C e utilizando $\lambda = 250$ nm, com fluxo de 1,5 mL/min.....51
- Figura 10 - Cromatograma da degradação ácida do MMF- pó extraído, solução de 100 $\mu\text{g/mL}$. Condições de análise: metanol e ácido fosfórico 0,05% 55:45 (v/v) em uma coluna C18 a 45°C e utilizando $\lambda = 250$ nm, com fluxo de 1,5 mL/min. Degradação após 1 hora (azul), após 2 horas (vermelho), após 3 horas (verde).....51

Figura 11 - Cromatograma da degradação em meio aquoso de MMF- pó extraído, solução de 100 µg/mL. Condições de análise: metanol e ácido fosfórico 0,05% 55:45 (v/v) em uma coluna C18 a 45°C e utilizando $\lambda = 250$ nm, com fluxo de 1,5 mL/min.....	52
Figura 12 - Cromatogramas de comparação da degradação em meio alcalino (azul), oxidativo (vermelho), aquoso (verde), ácido (roxo) de MMF após 1 hora de ensaio, com uma solução de 100 µg/mL. Condições de análise: metanol e ácido fosfórico 0,05% 55:45 (v/v) em uma coluna C18 a 45°C e utilizando $\lambda = 250$ nm, com fluxo de 1,5 mL/min.....	52
Figura 13 - Efeito do pH sobre a viscosidade do veículo.....	53
Figura 14 - Curvas representativas dos fluxos de diferentes fluídos.....	54
Figura 15 - Efeito dos eletrólitos sobre a viscosidade do veículo.....	54
Figura 16 - Comportamento reológico do veículo GUTE em diferentes concentrações.....	55
Figura 17 - Resultados da análise de pH ao longo dos dias em temperatura ambiente (TA) e em temperatura refrigerada (TR).....	57
Figura 18 - Resultados da análise de teor ao longo dos dias em temperatura ambiente (TA) e em temperatura refrigerada (TR).....	58
Figura 19 - Cromatograma representativo da suspensão de micofenolato de mofetila, sob condições de análises: (A) metanol:ácido fosfórico 0,05% (55:45), fluxo 1,5 ml/min, coluna C18 a 45°C e detecção em $\lambda = 250$ nm (B) - Cromatograma representativo da análise de suspensão de micofenolato de mofetila, sob condições de análise: metanol e ácido fosfórico 0,05% (65:35), em uma coluna C18 a 45°C e utilizando $\lambda = 250$ nm, com fluxo de 1,5 mL/min.....	59
Figura 20 - Evolução da viscosidade da suspensão de micofenolato de mofetila ao longo dos dias em temperatura ambiente (TA) e temperatura refrigerada (TR).....	60

Figura 21 - Resultados da análise da densidade ao longo dos dias em temperatura ambiente (TA) e temperatura refrigerada (TR).....61

Figura 22 - Microscopia com cristais de MMF em suspensões armazenadas em temperatura ambiente (1,2) e temperatura refrigerada (3,4).....61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - – Ensaio de estabilidade em diferentes formas de estocagem e período de incubação.....	31
Tabela 2 – Métodos de parâmetros e especificações relacionadas as conformidades do sistema para método em CLAE.....	36
Tabela 3 - Soluções de micofenolato de mofetila do pó obtido preparados para avaliação da linearidade por cromatografia líquida de alta eficiência.....	37
Tabela 4 - Reagentes e tempos utilizados para o teste de degradação forçada.....	38
Tabela 5 - Cronologia para análise de estabilidade sob as diferentes condições de armazenamento.....	41
Tabela 6 - Valores expressos dos parâmetros mensurados em relação as análises empregadas na aplicação das diferentes fases móveis.....	48
Tabela 7 - Determinações da concentração, desvio padrão e desvio padrão relativo referente ao teste de repetibilidade realizados com as amostras da solução contendo o micofenolato de mofetila obtido dos comprimidos em comparativo com a solução de micofenolato de mofetila – SQR.....	48
Tabela 8 - Peso individual dos comprimidos de MMF, peso médio e desvio padrão relativo.....	56
Tabela 9 - Porcentagem dos teores obtidos a partir de análise por cromatografia líquida de alta eficiência em relação as suspensões armazenadas em temperatura ambiente e temperatura refrigerada.....	58
Tabela 10 - Parâmetros avaliados comparados as concentrações das fases móveis empregadas na adequação do sistema de análise cromatográfico.....	60

Tabela 11 - Velocidades de degradação para o micofenolato de mofetila a partir das análises de doseamento das suspensões armazenadas em temperatura ambiente (TA) e temperatura refrigerada (TR) com as ordens de reações e prazos de validade.....62

Tabela 12 - Velocidades de degradação para o micofenolato de mofetila a partir das análises de viscosidade das suspensões armazenadas em temperatura ambiente (TA) e temperatura refrigerada (TR) com as ordens de reações e prazos de validade.....63

Tabela 13 - Valores obtidos do experimento de comparação experimental da administração da suspensão desenvolvida pela SNE e SNG.....64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTO	Associação Brasileira de Transplante de Órgãos
aQbD	<i>Analytical Quality by Design</i>
AM /MPA	Ácido micofenólico
AMB /TA	Temperatura ambiente
BPF	Boas Práticas Farmacêuticas
BV	Balão volumétrico
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CPP	Parâmetros Críticos do Processo
CQA	Critérios de Qualidade
CV	Coeficiente de Variação
DPR	Desvio Padrão Relativo
ELS	Evaporativo de Espalhamento de Luz
GTP	Guanosina Trifosfato
HPLC	<i>High-performance Liquid Chromatography</i>
ICH	<i>International Council for Harmonisation of Thechnical Requirements for Pharmaceutical for Human Use</i>
IMPDH	Enzima inosina-5-monofosfato desidrogenase
M	Molaridade
MMF	Micofenolato de mofetila
MS	Micofenolato sódico
PA	Princípio ativo
RI	Índice de Refração
SQR	Substância Química de Referência
TR	Temperatura refrigerada
UV-DAD	Ultravioleta com arranjo de diodos
UV/VIS	Ultravioleta visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	OBJETIVOS.....	23
2.1	Objetivo Geral.....	23
2.2	Objetivos Específicos.....	23
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	24
3.1	Terapia imunossupressora.....	24
3.2	Características gerais e físico-químicas do micofenolato de mofetila.....	25
3.3	Formas farmacêuticas e a escolha na administração por sondas.....	27
3.4	Administração de medicamentos por sondas.....	28
3.5	Risco na administração por sondas.....	29
3.6	Ensaio de estabilidade para desenvolvimento de medicamentos.....	30
3.6.1	<i>Ensaio de doseamento.....</i>	31
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
4.1	Materiais.....	33
4.1.1	<i>Insumos.....</i>	33
4.1.1.1	<i>Insumos ativos.....</i>	33
4.1.1.2	<i>Insumos inativos.....</i>	33
4.1.2	<i>Reagentes.....</i>	33
4.1.3	<i>Equipamentos.....</i>	33
4.2	Métodos.....	34
4.2.1	<i>Delineamento e local da pesquisa.....</i>	34
4.2.2	<i>Obtenção de Micofenolato de Mofetila a partir dos comprimidos.....</i>	34
4.2.3	<i>Preparo da solução padrão e da solução com micofenolato de mofetila obtido e a substância química de referência.....</i>	34
4.2.4	<i>Condições de análise e validação do modelo analítico empregado.....</i>	35
4.2.4.1	<i>Determinação das condições cromatográficas para a identificação do MMF...</i>	35
4.2.4.2	<i>Precisão e Exatidão.....</i>	36
4.2.4.3	<i>Teste de linearidade do método.....</i>	37
4.2.4.4	<i>Teste de seletividade por degradação forçada.....</i>	38
4.2.4.5	<i>Limites de detecção e quantificação.....</i>	39

4.3	Ensaio do veículo.....	39
4.3.1	<i>Formulação do veículo para suspensão.....</i>	39
4.3.2	<i>Avaliação dos efeitos do pH e dos eletrólitos no comportamento reológico da formulação.....</i>	39
4.4	Preparo das suspensões.....	40
4.4.1	<i>Análise do peso médio dos comprimidos de MMF.....</i>	40
4.4.2	<i>Método de preparo da suspensão.....</i>	40
4.5	Estudo de estabilidade.....	41
4.5.1	<i>Ensaio de pH.....</i>	41
4.5.2	<i>Ensaio de doseamento.....</i>	41
4.5.2.1	<i>Adequação do sistema de análise cromatográfica.....</i>	42
4.5.3	<i>Ensaio de comportamento reológico.....</i>	42
4.5.4	<i>Ensaio de densidade.....</i>	42
4.5.5	<i>Ensaio de microscopia óptica.....</i>	43
4.5.6	<i>Estudo da cinética de degradação do MMF.....</i>	43
4.6	Comparação experimental da administração por sondas nasointestinal e nasogástrica.....	43
5	RESULTADOS.....	45
5.1	Processo extrativo de Micofenolato de Mofetila a partir dos comprimidos.....	45
5.2	Determinação das condições cromatográficas e identificação do MMF.....	46
5.3	Precisão e Exatidão.....	48
5.4	Linearidade (curva de calibração)	49
5.5	Seletividade (teste de degradação forçada).....	49
5.6	Limite de detecção e Limite de quantificação.....	53
5.7	Ensaio do veículo.....	53
5.7.1	<i>Avaliação dos efeitos do pH e dos eletrólitos no comportamento reológico da formulação.....</i>	53
5.8	Preparo das suspensões.....	55
5.8.1	<i>Análise do peso médio dos comprimidos de MMF.....</i>	55
5.9	Estudo de estabilidade.....	56
5.9.1	<i>Ensaio de pH.....</i>	56
5.9.2	<i>Ensaio de doseamento.....</i>	57

5.9.2.1	Adequação do sistema de análise cromatográfica.....	59
5.9.3	<i>Ensaio de comportamento reológico.....</i>	60
5.9.4	<i>Ensaio de densidade.....</i>	61
5.9.5	<i>Ensaio de microscopia óptica.....</i>	61
5.9.6	<i>Estudo de cinética de degradação e determinação do prazo de validade.....</i>	62
5.10	Comparação experimental da administração em sonda nasointestinal e nasogástrica.....	64
6	DISCUSSÃO.....	65
7	CONCLUSÃO.....	71
	REFERÊNCIAS.....	72

1 INTRODUÇÃO

O micofenolato de mofetila (MMF) é um imunossupressor, derivado do ácido micofenólico (MPA), se apresenta em forma de éster morfolinoetílico, um pró-fármaco, assim como o micofenolato de sódio, ambos derivados de MPA, utilizados em terapias imunossupressoras. O MPA inibe efeitos proliferativos de linfócitos T e B pela inibição de síntese das purinas de forma seletiva, não-competitiva e reversível da enzima monofosfato de inosina desidrogenase (IMPDH), conseqüentemente inibe as funções linfocitárias, assim como inibe a produção de anticorpos, aderência celular e migração (GOODMAN, *et al*, 2006).

O MPA tem sua produção realizada a partir de *Penicilium brevi-compactum*, *P. stoloniferum* e *P. spp.*, apresentando como fórmula molecular $C_{17}H_{20}O_6$ e massa molar equivalente a 320,34g. O MMF, cuja formula molecular é $C_{23}H_{31}NO_7$ tem massa molar igual a 433,49 g/mol, apresenta-se como pó cristalino branco ou quase branco. Os ésteres e o MPA se comportam com teor ácido, sendo o MMF solúvel em acetona e metanol, ligeiramente solúvel em etanol e pouco solúvel em água (O'NEIL, 2006).

Em protocolos clínicos, o MMF é utilizado na terapia pós-transplantes renais e de outros órgãos a fim de diminuir as chances de rejeição do órgão, além de outras condições como nefrite lúpica (BRASIL, 2018). O MMF é rapidamente hidrolisado em ácido micofenólico (AM) após administração oral e com rápida absorção, porém em diversos países ocorre desafios assistenciais em relação a falta de formas farmacêuticas líquidas para serem utilizadas na pediatria assim como na administração por sondas de fármacos no tratamento de indução e manutenção pós-transplante ou de rejeição do órgão (ZHANG, 2018).

Os comprimidos existentes dos pró-fármacos de AM são revestidos, isso implica que sua administração deve ser na forma oral com o comprimido íntegro para se obter o máximo efeito, porém com a quebra do revestimento, ocorre impactos na absorção e outros aspectos farmacocinéticos após a utilização do medicamento. O revestimento entérico serve para proteger o fármaco do meio estomacal e assim não alterar sua dispersão e absorção, com esse rompimento, pode ocorrer falha terapêutica e instabilidades quanto a eficiência da terapia (LEE, 2023).

A terapêutica de um paciente transplantado ou em uso de imunossupressores, na área hospitalar, se torna mais desafiadora, quando ocorre a prescrição de medicamentos por sondas, prática essa que têm se tornado mais corriqueira, pois a dispensação destes medicamentos deve se adequar a realidade de cada paciente, em relação a parâmetros clínicos ou condições específicas, sendo assim necessário realizar adequações de formas

farmacêuticas, para abranger pacientes pediátricos, geriátricos, em uso de sondas ou com quaisquer outras peculiaridades, ficando essa responsabilidade da dispensação assertiva e a manipulação de responsabilidade do profissional farmacêutico (DASHTI-KHAVIDAKI *et al.*, 2012).

As sondas enterais têm como principal objetivo suprir necessidades carenciais nutricionais dos pacientes, em que estes possuam dificuldade ou impossibilidade de deglutição a partir da via oral, sendo estas situações causadas por diversos fatores, como distúrbios gastrointestinais, doenças neurológicas, neoplasias, condições transitórias e crônicas. Desde a Roma antiga houve relatos da utilização destes dispositivos para indução de êmese e impedimento de envenenamento (GORZONI; DELLA TORRE; PIRES, 2010). Com a ascensão de seu uso, com materiais mais flexíveis, houve uma amplificação de sua aplicabilidade, sendo importante para o tratamento de intoxicações, administração de dietas enterais, assim como medicamentos (BANKHEAD, *et al.*, 2009, MAGNUSON, *et al.*, 2005).

A administração de medicamentos por sonda é uma necessidade cada vez mais comum na assistência hospitalar e domiciliar, devido a sua comodidade e custo baixo, porém é uma via alternativa que possui especificidades e dificuldades quanto ao arsenal de formas sólidas disponíveis e seguras para sua utilização (FIGUEIREDO, 2018; MOREIRA, *et al.*, 2018; BOURDENET, *et al.*, 2015).

São necessárias avaliações diárias em relação à prescrição desses medicamentos, tendo em vista que, muitos desses na forma farmacêutica sólida possuem revestimentos que podem comprometer a administração, não garantindo uma eficiência na terapia por queda na biodisponibilidade pelas mudanças em sua farmacocinética ou além dessas questões, existem riscos no momento da manipulação para a equipe, pois o ácido micofenólico e seus derivados, MMF e MFS, são citostáticos, portanto podendo trazer riscos ao serem manipulados ou inalados aerossóis ao triturar a FFS (SALMON, *et.al.*, 2013).

As FFS são as mais comumente utilizadas, porém a utilização quando em situações na pediatria, pacientes com dificuldade de deglutição, em uso de sondas ou aqueles que necessitam de doses padronizadas, como em recém-nascidos não são recomendadas pelos fabricantes ou não obtiveram estudos garantindo sua eficácia. Com isso, opta-se pela utilização da forma líquida dos medicamentos, principalmente de medicamentos suspensos ou dispersos para pacientes que precisem de utilização de forma contínua, como transplantados (MORIEL, *et al.*, 2012). A transformação da forma farmacêutica para a líquida, é uma opção, porém essa

realidade é de forma *off-label* e muitas vezes não é evidenciada a estabilidade dessa formulação, comprometendo a segurança do tratamento (SILVA, 2020).

Uma suspensão de 200mg/mL de MMF (Roche Products Ltd, Reino Unido) é comercializada no exterior do Brasil, porém seu alto custo e a não disponibilidade no país faz com que a administração desse fármaco na forma líquida não seja realizada sem se proceder a transformação da forma farmacêutica de comprimidos para suspensões (SILVA, 2020).

Com isso há uma necessidade de avaliação de estabilidade desse processo, verificando que ao se ter a transformação da forma farmacêutica sólida para a líquida, novas reações físico-químicas podem ocorrer e alterar o produto, assim como a falta de estabilidade fomentar uma falta de efetividade da utilização nessas condições (ICH, 2005).

A Organização Internacional de Padronização inclui normas aplicáveis para Boas Práticas de Fabricação (BPF) a partir de direcionamentos por meios de guias em que um dos seus objetivos é o desenvolvimento de formulações, como o Q8, Q9 e principalmente, o Q10, em que este último orienta a estabelecer, implantar e manter um sistema que permita a liberação do produto com atributos de qualidade, atendendo às necessidades de pacientes, profissionais de atendimento à saúde e autoridades regulatórias (ICH – Q10).

Baseado nesse problema, o objetivo desse estudo foi investigar a estabilidade física e química de suspensões de MMF 10 mg/mL pelo material disponível para estudo, a partir de metodologias aplicáveis a partir da Farmacopeia Brasileira, dos guias do ICH (Q8, Q9 e Q10) e legislações em vigência, assim como visando o desenvolvimento de uma suspensão com estabilidade. A dose preconizada foi visando o atendimento ao público geral, em vista que a dose recomendada na pediatria é 10 mg/kg/dia. As suspensões foram armazenadas por 70 dias em uma temperatura de 20 a 25 °C e 63 dias em uma temperatura de 2 a 8 °C, preparadas em um veículo desenvolvido no Laboratório de Farmacotécnica da Universidade Federal do Ceará, nomeado “GUTE”, sem a utilização de xaropes e que vem sendo avaliado e obtendo bons resultados de estabilidade em outros estudos (SOUSA, *et al*, 2014; SOUSA, *et al*, 2014, BATISTA, 2014; MEDEIROS, 2014).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Desenvolver uma suspensão com o micofenolato de mofetila disperso no veículo “GUTE”

2.2 Objetivos específicos

- Validar método analítico em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) para avaliação de doseamento;
- Investigar a escolha da concentração do veículo através da viscosidade para emprego na suspensão;
- Avaliar os parâmetros de estabilidade físico-químicos e ensaio de microscopia da suspensão;
- Determinar do prazo de validade por cálculos de cinética da degradação do fármaco;
- Comparar administração da formulação em sonda nasoenteral e nasogástrica.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Terapia imunossupressora

Transplante se refere ao ato de transferência de tecido ou órgão entre locais distintos, sendo na mesma pessoa ou em pessoas diferentes (IOANNIDOU, MAKRIS, 2003). O contexto envolto da realização de transplantes obteve como um dos principais marcos de ascensão com Alexis Carrel como pioneiro na prática, quando em 1912 retirou um rim de um cão e o colocou no pescoço do animal, porém o mesmo veio a falecer momentos depois do procedimento (SADE, 2005). Em 1954 se realizou o primeiro transplante bem-sucedido, entre gêmeos, sendo este renal e com melhora do quadro clínico do paciente, assim demonstrando a eficiência da prática (MURRAY, 2005).

A prática de transplantes foi avançando ao longo dos anos e ficando mais promissores, com estudos relacionados a transplantes autólogos (realizado com tecidos e órgãos do próprio indivíduo), alogênicos (entre indivíduos da mesma espécie) e xenogênicos (entre indivíduos de espécies distintas). Assim, na década de 50, Joseph Murray realizou o primeiro transplante renal que obteve sucesso com sobrevivência do paciente, na década de 60 houveram os primeiros transplantes de pulmão, fígado e coração e no final da década de 80, o primeiro transplante multivisceral, em que a prática seria realizada com mais de um órgão no mesmo procedimento (BRADLEY, HAMILTON, 2001; GARCIA, et al, 2013; MIES, 1998; MORDANT, 2007; SILVA, 2008; STEFONI, et al, 2004).

O número de transplantes no Brasil obteve queda, principalmente em transplantes renais, desde a pandemia ocasionada pelo COVID, porém os transplantes mais comumente realizados são renais, hepáticos, coração, pâncreas e pulmão. No Brasil no primeiro semestre de 2022 foram realizados 4.762 transplantes renais, sendo o estado do Ceará, o oitavo estado que mais realizou estes transplantes e o quarto em maior número de realizações de transplantes hepáticos (ABTO, 2022).

Atualmente os transplantes são mais sofisticados, envolvendo toda uma equipe multidisciplinar para auxiliar na realização de transplantes. Os profissionais são essenciais, principalmente, na fase pós-operatória, que realiza a avaliação clínica do receptor ao órgão doado, podendo se apresentar a rejeição hiperaguda, rejeição aguda ou rejeição crônica. A primeira ocorre devido a anticorpos citotóxicos pré-formados que se direcionam ao órgão, o segundo é o mais comum e caracterizado por resposta imune mediada por células T e o último se apresenta como declínio do órgão após 6 meses do procedimento por mecanismos de lesão

imunomediada, lesão de isquemia-reperfusão e toxicidade de agentes imunossupressores (POLTRONIERI, *et al.* 2020, ROCHA, *et al.* 2017).

A terapia de imunossupressão possui a finalidade de atenuar a resposta imune dos pacientes em tratamento pós-transplantes e/ou que possuem doenças auto-imunes. Essa terapia pode ser inespecífica, quando ela age no sistema imune independentemente do antígeno, resultando em grande vulnerabilidade a processos infecciosos e a específica, quando ocorre a eliminação de linfócitos específicos (ROITT, *et al.*, 2003).

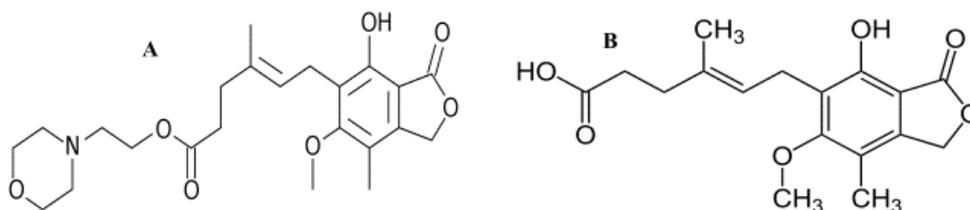
A utilização desses medicamentos da imunossupressão pode ser realizada em três etapas: indução, manutenção e tratamento da rejeição. Na terapia de indução, são utilizados imunossupressores de alta intensidade com o intuito de diminuir as chances de rejeição ao órgão. Logo após o procedimento, geralmente, a combinação tripla do inibidor de calcineurina, um agente antiproliferativo e um corticoesteroide são as escolhas realizadas para iniciar o tratamento (BARBOSA, *et al.* 2020).

Na etapa de manutenção, podem ser seguidos os mesmos protocolos, porém em doses mais baixas ou alterar para outras classes e fármacos imunossupressores, conforme a tolerância ao tratamento do paciente, para assim evitar a evolução para uma rejeição do órgão (SILVA, *et al.* 2020).

3.2 Características gerais e físico-químicas do micofenolato de mofetila

O micofenolato de mofetila (MMF) (Figura 1A) é um pró-fármaco, um éster do ácido micofenólico, que possui propriedades imunossupressoras como agente antiproliferativo, interrompendo a proliferação de células T e B através da inibição seletiva da via de biossíntese de purinas, inibindo reversivelmente a enzima inosina 5'-monofosfato desidrogenase (IMPDH) do tipo II, envolvida na síntese de nucleosídeos de guaninosina, que são substratos para a síntese de ácido desoxirribonucleico e ácido ribonucleico, em que linfócitos T e B necessitam dessa via para sua proliferação celular (GOODMAN, *et al.*, 2006). O MMF também evita rejeição aguda e crônica de enxertos também pela depleção do pool de nucleotídeos guanosina trifosfato (GTP) em células como linfócitos e monócitos, suprimindo assim resposta imune mediada por células e formação de anticorpos (EUGUI, *et al.*, 1991).

Figura 1 – Estruturas moleculares do pró-fármaco, micofenolato de mofetila (A) e do fármaco, ácido micofenólico (B)



Fonte: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

O ácido micofenólico (MPA) (Figura 1B) foi isolado em 1898 pela primeira vez, por uma cultura de *Penicilium glaucum* (OHSUGI, *et al*, 1976). O fármaco não apresenta interações clínicas significativas com outros imunossupressores, principalmente, quando utilizados de forma concomitante após transplantes (FRANKLIN, COOK, 1969).

Relacionado a farmacocinética, o fármaco precisa ultrapassar diversas barreiras, como a absorção incompleta nas membranas biológicas, biodisponibilidade incompleta devido a utilização em forma de éster (pró-fármaco), excreções rápidas, toxicidade, ser pouco solúvel, ausência de estabilidade em formulações e também possui características organolépticas inconvenientes (CHIN, FERREIRA, 1999).

Os principais efeitos tóxicos relacionados ao emprego deste medicamento estão os efeitos tóxicos gastrointestinais, como diarreia e vômitos, além de efeitos tóxicos hematológicos, como a leucopenia. Inclusive possui alta incidência em facilitar infecções oportunistas, como o citomegalovírus (GOODMAN, *et al*, 2006). Ao menos 3 metabólitos secundários são originados pelo ácido micofenólico no organismo, entre eles o ácido micofenólico glucoronado MPAG, que não possui atividade farmacológica, porém contribui para os efeitos gastrointestinais e hematológicos (SHIPKOVA, *et al*, 2003).

Em protocolos clínicos brasileiros, o MMF é utilizado na terapia pós-transplante renais e outros órgãos a fim de diminuir as chances de rejeição do órgão, geralmente combinado a corticoesteróides como prednisona e em alternativa a ciclosporina A, tacrolimo e azatioprina. Possui também indicações a outras condições como nefrite lúpica e outras doenças autoimunes (BRASIL, 2016; BRASIL, 2018; BRASIL, 2020).

Uma das principais questões relacionadas ao MMF é o seu alto custo, sendo distribuído pelo SUS na forma farmacêutica sólida para recém-transplantados para evitar a rejeição aguda de órgãos e em algumas situações, como por exemplo, deve ser utilizado de forma contínua e uma das dificuldades é a ausência de sua apresentação líquida no mercado brasileiro, havendo apenas no mercado exterior a presença da suspensão (TEIXEIRA, 2007). O tratamento com o comprimido padronizado no Brasil é de 0,5 a 1,5g duas vezes ao dia (BRASIL, 2002), no caso em que a dose padronizada é 1,5g duas vezes ao dia, ocorre a estimativa de um financiamento federal de R\$756,00/mês para cada paciente em uso (BRASIL, 2006).

O micofenolato de mofetila em alguns comprimidos, como o Cellcept® que possui revestimento, ao ser utilizado em sondas, pode vir a ocasionar obstrução e também perder seu efeito, além de expor a equipe de enfermagem aos seus efeitos citotóxicos, durante o processo de trituração, portanto sua manipulação para administração em sondas de forma tradicional, não é recomendada (FERREIRA,2012).

3.3 Formas farmacêuticas e a escolha na administração por sondas

As formas farmacêuticas de preferência para se utilizar em sondas são as líquidas, tendo em vista que são menores as chances de ocasionar a obstrução da sonda ao dispersar o comprimido, porém é necessário avaliar condições específicas da forma líquida que irá ser empregada, como a osmolaridade que, dependendo a dose, pode gerar dores abdominais e diarreia a depender da carga osmótica administrada, além de também apresentar problemas de intolerância e de compatibilidade (CAUSSIN, et al, 2012; SOARES BARBOSA, et al, 2012).

Hoeffler e Vidal (2015) apontam que as formas farmacêuticas líquidas preferíveis para administração em sondas são: os elixires, as soluções e as suspensões em relação aos xaropes, pois este último está mais relacionado à obstrução de sondas. Keshtar (2012) refere que em uma unidade hospitalar 44% relataram utilizar formas sólidas em sondas por motivos de não ter disponível a forma líquida no mercado ou na padronização do hospital, como ocorre com diversos medicamentos e em diversas realidades hospitalares.

É destacado por Moriel, et al (2012) que outros parâmetros físico-químicos devem ser evidenciados quando se trata da administração de líquidos pelas sondas, como grau de viscosidade que pode favorecer a sua obstrução e o pH, tendo em vista que líquidos ácidos quando reagem com fórmulas entéricas, podem gerar massa sólida causando também oclusão da sonda (KLANG; MCLYMONT; NG, 2013).

Na ausência de formas líquidas, a utilização de comprimidos e cápsulas são consideradas, porém comprimidos e cápsulas com sistemas de liberação diferenciados possuem

filmes ou revestimentos que podem contribuir para obstrução da sonda e também torna o fármaco ineficaz ao serem triturados ou dispersos (MITCHELL, 2015).

Ao manipular formas farmacêuticas sólidas para administrar nessa via devem-se obter conhecimentos da possibilidade de trituração, volume necessário para sua diluição ou dispersão, pois em casos de erros nas técnicas pode acarretar, principalmente, redução na biodisponibilidade do princípio ativo do medicamento (BOULLATA, et al, 2016).

3.4 Administração de medicamentos por sondas

A utilização da via de administração de medicamentos por sondas se dá em situações que o paciente possui dificuldades ou impossibilidades na deglutição, tendo em vista que esta via garante o acesso ao trato gastrointestinal, podem ser utilizados como via de administração de alimentos e medicamentos (FIGUEIREDO, *et.al*, 2018).

É utilizado três tipos de sondas para alimentação, sendo elas: sonda nasoenteral, nasogástrica e as ostomias. A sonda nasoenteral é introduzida até o intestino delgado, já a sonda nasogástrica, cujo material é de polivinila, é introduzida do nariz até o estômago e as ostomias são sondas especiais introduzidas diretamente no estômago ou no intestino (UNAMUNO, MARCHINI, 2002).

Para a realização da administração por sondas é necessário diversos cuidados, como a avaliação da escolha da forma farmacêutica a ser empregada e a tecnologia nela inserida e a localização da sonda, tendo em vista que as diferenças de materiais entre as sondas nasoenterais e nasogástricas, além da interação entre fármacos, e dos fármacos com a nutrição enteral, a realização incorreta pode acarretar problemas, como a obstrução da sonda, seja por interações químicas ou por falta de irrigação da mesma (MOREIRA, et.al, 2018).

Existe então um desafio assistencial perante a equipe multidisciplinar de garantir o tratamento por essa via, considerando principalmente a segurança e eficácia do tratamento. Atualmente se apresenta diminutas informações relacionadas à administração de formas farmacêuticas sólidas, assim como líquidas ou até mesmo a indisponibilidade de uma delas para a realização da administração por essa via, sendo necessário realizar procedimentos, como trituração, dispersão, a fim de sistematizar suas utilizações (BOURDENET, et al., 2015).

A aplicabilidade de sondas de nutrição enteral necessita-se de diversos critérios para incluí-la como conduta, dentre eles: incapacidade de utilização da via oral, estado nutricional, enfermidades e condições clínicas intrínsecas ao paciente, problemas relacionados ao processo digestivo do paciente, além do tipo de dieta (TAYLOR, 2013).

3.5 Riscos na administração por sondas

Os medicamentos orais são comumente utilizados nessa prática de administração por sondas e apesar dessa via ser considerada mais segura e econômica que a via intravenosa, por exemplo, também apresenta maiores chances de eventos adversos, como toxicidade medicamentosa, erros de medicação, efeito subterapêutico e obstrução de sondas, pois as formulações de formas farmacêuticas orais não foram prioritariamente desenvolvidas para ser administradas em sondas e ostomias (WILLIAMS, 2008).

Segundo Matsuba, C.S.T (2003) os principais riscos que podem ocorrer em relação a utilização de sondas para nutrição enteral são: mau posicionamento da sonda, obstrução e contaminação, inadequada administração da dieta ou desenvolvimento de intolerâncias à fórmula pelo paciente.

A obstrução é considerada a principal complicação mecânica e mais comum relativo à utilização de sondas e com isso faz com que ocorra a interrupção do aporte nutricional ao paciente, podendo gerar carências e conseqüentemente interferir na terapia medicamentosa. Ao avaliar essa intercorrência, verificou-se que a aglutinação (união de substâncias presentes), em 80% dos casos, é ocasionada pela associação da fórmula enteral e dos resíduos gástricos advindos da aspiração da sonda (KEHR, et al, 2002).

Com a administração por essa via, além da interação entre fármacos, em que ocorre a possibilidade de se obter subdoses, aumentar risco de toxicidade ou até mesmo aumentar efeitos colaterais e reações adversas, também pode ocorrer interações entre o fármaco e a nutrição enteral, caracterizada pela interação fármaco-nutriente de forma direta ou indireta. Fatores que devem ser controlados para se evitar transtornos relacionados a essa problemática são: a presença de alimentos, eletrólitos e vitaminas na área estomacal, além da acidez, osmolaridade, presença de sorbitol nas preparações líquidas, volume do fármaco a ser administrado, entre outros (SEBELIN, 2006).

Os determinantes avaliados em relação às interações entre os nutrientes e os fármacos a serem administrados são principalmente a dose, o tempo de administração, além das características físico-químicas e as formas farmacêuticas que se apresentam, fatores que podem resultar em alterações como o perfil do paciente e sua enfermidade e as condições de necessidade do regime de nutrição que embasam a escolha para o tipo de sonda, entre eles: a posição que será colocada, as características de carência e suprimento da dieta estabelecida e o método em que será administrado (SEBELIN, 2006).

3.6 Ensaios de estabilidade para desenvolvimento de medicamentos

A caracterização dos materiais a serem utilizados para o desenvolvimento de uma formulação medicamentosa, independente do sua forma farmacêutica, se faz necessário para conhecer as principais características físico-químicas inerentes aos componentes presentes, com o intuito de analisar possíveis interferentes que possam ocorrer nas etapas posteriores de análises, com o objetivo de conhecer o teor dos fármacos, assim como a compatibilidade dos componentes da formulação e seus possíveis produtos de reações em diferentes meios, para se garantir a qualidade do produto que venha a estar sendo desenvolvido (FONSECA, 2015).

A Farmacopeia Americana define estabilidade como a extensão relacionada a retenção de propriedades e características semelhantes à da sua produção, dentro de limites legais especificados, a partir do seu armazenamento e uso, dividindo-se em cinco tipos: estabilidade química, física, microbiológica, terapêutica e toxicológica (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2006).

Os testes de estabilidade colocam o fármaco sob estresse para avaliação de possíveis formações de produtos de degradação, auxiliam no estabelecimento de rotas de degradação, estabilidade molecular e validação dos processos analíticos necessários para realizar os ensaios, verificando-se a partir de alterações ocasionadas por fatores extrínsecos, como temperatura, umidade e luz (ocasionando fotólise), assim como fatores intrínsecos como oxidação e hidrólise (ICH, 2003; DANIEL, 2013).

O esperado de uma formulação considerada estável é que não ocorra degradação intensa do seu princípio ativo, nem alteração no produto final, durante o tempo de prateleira. Os parâmetros que garantem essa estabilidade é a eficácia e segurança. A eficácia é garantida pela dose do fármaco na formulação, assim como a manutenção da sua solubilidade e a sua biodisponibilidade após a administração. A segurança está relacionada a não formação de produtos tóxicos, que possam comprometer a saúde do indivíduo pelo seu uso (ICH, 2003; DANIEL, 2013).

Os fatores relacionados a estabilidade são avaliados a partir dos testes de estresse em que submetem a formulação a variações bruscas de pH, ambiente oxidativo, entre outras situações. Essas amostras são avaliadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), avaliando a degradação do fármaco frente a meio ácido, básico e oxidativo, identificando possíveis produtos de degradação, assim como, avaliando a seletividade do método analítico (ICH, 2003). O ICH preconiza recomendações para realização de estudo de acordo com o objetivo proposto, conforme é demonstrado na Tabela 1.

A avaliação do comportamento reológico se verifica a deformação provocada por uma dada deformação em um tempo determinado, em que se avalia a relação quantitativa da deformação e tensão em relação ao tempo, assim como a relação do comportamento reológico com a estrutura de armazenamento do medicamento, composição, condições ambientais, além de fatores como temperatura e pressão (MACHADO, 2021).

Tabela 1 – Ensaio de estabilidade em diferentes formas de estocagem e período de incubação.

ENSAIO	ESTOCAGEM	PERÍODO EM INCUBAÇÃO
Prazo Longo	25°C ± 2°C/60% UR* ± 5% UR ou 30°C ± 2°C/65% UR ± 5% UR	12 meses
Intermediário	30°C ± 2°C/65% UR ± 5% UR	6 meses
Acelerado	40°C ± 2°C/75% UR ± 5% UR	3 meses

Legenda: UR: umidade relativa

Fonte: ICH, 2003

3.6.1 Ensaio de doseamento

A determinação de doseamento, assim como avaliação de impurezas e produtos de degradação são realizados através de métodos analíticos como CLAE e cromatografia de camada delgada (CCD). Esses métodos auxiliam na identificação desses compostos, podendo contribuir nesse processo de identificação do fármaco e avaliação da estabilidade, além ser possível de constatar o teor do fármaco através do método.

O aparelho da CLAE pode ser utilizado para o desenvolvimento de novas substâncias farmacologicamente ativas e também para controle da qualidade e análises industriais, sendo uma técnica que está em ascensão em sua utilização, principalmente em estudos científicos, por vantagens relacionadas a diversos aspectos, como: rapidez nas análises em comparação com outros métodos, resolução entre compostos de misturas complexas e compatibilidade com detectores usuais para esses tipos de análises, como ultravioleta-arranjo de diodos (UV-DAD), evaporativo de espalhamento de luz (ELS), índice de refração (RI), fluorescência (F) (CHESNUT, SALISBURY, 2007; FEKETE, *et al*, 2014).

Porém há um desafio analítico ainda maior com a ascensão desses aparelhos, demandando um planejamento e maior quantidade de experimentos para se obter as especificidades e adaptações coerentes com a separação que é desejada. Um dos conceitos mais

utilizados para esse planejamento se baseia no *Analytical Quality by Design* (aQbD) que a partir dos guias do *International Council for Harmonisation of Thechnical Requirements for Pharmaceutical for Human Use* (ICH) nomeados Q8, Q9 e Q10 que são utilizados para o desenvolvimento farmacêutico, podem ser aplicados para o desenvolvimento analítico, essa prática então concebe maior rapidez, agilidade para identificar melhorias e harmonização dos conceitos regulatórios. Ela é dividida em etapas, sendo estas: definição do perfil analítico desejado, análise de risco, ordenação de fatores de risco e priorização e por fim as etapas de validação do método (MARANHO, 2017).

A etapa de definição do perfil analítico consiste, sobretudo, avaliar a simetria dos picos, suas resoluções, pureza e fatores de retenção que são definidos como atributos de critério de qualidade (CQA). A etapa seguinte é a de análise de risco em que propõe identificar aspectos críticos para a escolha da preparação da amostra até a análise dos dados (MARANHO, 2017).

A terceira etapa constitui em experimentos que mostrem os efeitos dos fatores que compõem o método analítico como, a interação entre esses efeitos e quanto a mudança de proporções e valores influenciam no cumprimento da CQA, como a concentração dos componentes da fase móvel ou a escolha da coluna. A quarta e última etapa é a validação propriamente dita com os parâmetros críticos do processo (CPP) estando associados a exatidão, precisão, seletividade, limite de detecção, limite de quantificação, faixa de linearidade, robustez e verificação do sistema, de modo geral (MARANHO, 2017).

A linearidade se refere à capacidade de se obter respostas analíticas proporcionais à concentração real da amostra empregada dentro de um intervalo específico. A seletividade se refere a habilidade do método empregado de medir uma substância com mudanças em meio a mudanças de diluições, produtos de degradação, impurezas, componentes de matriz. A precisão verifica a proximidade de valores obtidos pelas amostras empregadas de acordo com o método a ser empregado e sendo expressa em desvio padrão relativo (DPR) ou coeficiente de variação (CV), a exatidão é verificada por meio da concordância dos resultados individuais. O limite de detecção é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado e o limite de quantificação é a menor quantidade que pode ser quantificada com precisão e exatidão e robustez se refere a capacidade do método de resistir a pequenas variações nas análises, como pH ou concentrações de fases móveis (SILVA, 2019).

4. MÉTODOS

4.1 Materiais

4.1.1 Insumos

4.1.1.1 Insumos ativos

- MMF, SQR, (European Pharmacopoeia)
- MMF, 500 mg, medicamento genérico (Accord Farmacêutica Ltda)

4.1.1.2 Insumos inativos

- Goma xantana
- Manitol
- Metil e propil parabeno
- Sucralose
- Edetato sódico
- Água purificada

4.1.2 Reagentes

- Acetonitrila UV-HPLC
- Ácido fosfórico
- Metanol UV-HPLC
- Peróxido de hidrogênio PA 30%
- Ácido clorídrico
- Hidróxido de sódio

4.1.3 Equipamentos

- Agitador mecânico de bancada, com eixo de 30 cm, hélice naval, com controle de velocidade FISATON 317
- Balança analítica Swiss Quality Precisa 205 A SCS e Celtac FA2104N
- Coluna cromatográfica C18, 250 x 4,6 mm, 4 µm Phenomenex Synergi Hydro-RP 80
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência com os seguintes componentes: sistema de gerenciamento Varian Star Workstation versão 6.41, bomba Dynamax Rainin Model SD-200, injetor manual com loop de 20 µL Rheodyne, degaseificador Shimadzu DGU-14A, detector UV/vis com PDA Varian ProStar
- Kit de filtração de fase móvel com membrana de nylon 0,45 µm com 47 mm
- pHmetro Digimed DM-20
- Picnômetro de vidro

- Viscosímetro rotacional Haake Visco Tester 6L com Spindle L1 com software ViscoTester
- Microscópio óptico Quimis Academic
- Sonicador

4.2 Métodos

4.2.1 Delineamento e local da pesquisa

Foi realizado um estudo experimental para obter o desenvolvimento e a avaliação da estabilidade de uma suspensão de MMF utilizando o veículo GUTE. Os ensaios do estudo físico-químico da suspensão foram executados durante o período de 6 meses, sendo as atividades inerentes a pesquisa desenvolvidas no Laboratório de Farmacotécnica da Universidade Federal do Ceará no período de janeiro a junho de 2021.

4.2.2 Obtenção de Micofenolato de Mofetila a partir dos comprimidos

Para este procedimento de obtenção do princípio ativo de MMF, um comprimido do pró-fármaco de 500 mg foi pulverizado em gral e pistilo em movimentos circulares até obtenção de pó branco misturado ao revestimento de cor rosa, posteriormente foi transferido para um balão volumétrico de 50 mL e completado com metanol, após isso realizou-se o processo de sonicação por 10 minutos para obtenção da solubilização do fármaco. Uma filtração a vácuo foi realizada para retirar impurezas da solução utilizando filtro de membrana de nylon. Após essa etapa, o líquido foi transferido para uma placa de Petri e adicionado 50 ml de água destilada e colocado na estufa a 60 °C por 24 horas para evaporação. O material obtido foi avaliado quanto aos aspectos microscópicos, macroscópicos e utilizado para identificação e doseamento por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

4.2.3 Preparo da solução padrão e da solução com micofenolato de mofetila obtido

Foram preparadas duas soluções para serem realizadas a identificação do princípio ativo, a solução 1 com 20 mg do pó obtido do processo extrativo dos comprimidos diluídos em 10 mL de metanol e a solução 2 com 20 mg do MMF - Substância Química de Referência (SQR) diluído em 10 mL de metanol também e ambos após seu preparo foram mantidos em sonicação por 10 minutos até obtenção da solubilização em uma concentração de 2mg/mL, posteriormente eram retirados 1 mL e colocados em outro balão volumétrico (BV) para obter alíquotas com concentrações iguais a 0,2 mg/mL, utilizando-se do metanol. Com essa solução final, eram

preparadas novas diluições necessárias, de acordo com o ensaio, utilizando diluente com metanol e água (55:45), vide Farmacopeia Brasileira (2019).

Soluções de MMF SQR e amostra foram preparadas inicialmente pela solubilização e diluição em metanol e, em seguida, pela diluição em fase móvel composta de metanol:água (55:45), de modo a obter concentrações em torno de 200 µg/mL, para serem utilizadas na identificação e doseamento por CLAE.

4.2.4 Condições de análise e validação do modelo analítico empregado em CLAE

O método de análise empregado foi estabelecido após testes de fases móveis para determinação do teor de MMF obtido dos comprimidos e para análise do MMF – SQR (Adaptado de BRASIL, 2019 e COSTA, 2009).

O método proposto foi realizado em uma coluna C₁₈ 250 x 4 mm; 5 µm, em um fluxo de 1,5 mL/min a 45°C utilizando um sistema de detecção ultravioleta visível por *Diode Array Detector* (UV/DAD) de 250 nm com volume de injeção igual a 20 µL e a concentração trabalhada foi de 100 µg/mL MMF. As fases móveis avaliadas foram especificadas em: (A) metanol: H₃PO₄ 0,05% (55:45) e (B) acetonitrila: trietilamina 0,3% (35:65), em B foi realizado correção do pH para 3.

4.2.4.1 Determinação das condições cromatográficas para a identificação do MMF

As condições foram estabelecidas conforme o avaliado previamente em referências bibliográficas e adaptado para as condições de utilização com os materiais disponíveis no laboratório de estudo. As análises utilizando a coluna C₁₈ em 4.2.4 foram realizadas com fases móveis descritas em BRASIL (2019), COSTA (2009) e atendendo os critérios de especificações de conformidade para cromatografia líquida de alta eficiência, conforme a Tabela 2.

Foram testadas alíquotas da solução 1, utilizando o diluente (metanol e água 55:45) (vide 4.2.3) em uma concentração igual a 100 µg/mL em um cromatograma da especificação B (4.2.4). Após seus resultados foram realizadas a comparação com a fase móvel da especificação A (4.2.4), por fim, foram avaliados seus cromatogramas em fluxos e tempos de corridas distintos com o intuito de evidenciar os que possuíam os melhores CQA. Com a escolha da fase móvel, foi utilizada também para o mesmo procedimento descrito na solução 2, com intuito comparativo.

Tabela 2 – Métodos de parâmetros e especificações relacionadas as conformidades do sistema para método em CLAE (BRUCE, et al, 1998; SNYDER, et al, 1997).

Parâmetros avaliados	Equação aplicada	Especificação
Fator de capacidade (k)	$\frac{t_r - t_0}{t_0}$	$k \geq 2$
Resolução (Rs)	$\frac{1,18(t_2 - t_1)}{W_{1:0,5} + W_{2:0,5}}$	$Rs \geq 2$ em relação ao pico de interesse e o pico interferente adjacente mais próximo
Fator de cauda (T)	$\frac{W_{00,5}}{2f}$	$0,8 \geq T \geq 1,2$
Número de pratos (N)	$5,54(t_r/W_{0,5})^2$	$N \geq 2.000$

Legenda: (t_r) – tempo de retenção do pico de interesse (minutos)

(t_0) – tempo morto (relacionado ao primeiro distúrbio significativo em linha de base, em minutos)

(t_1 e t_2) – tempos de retenção do primeiro e segundo picos adjacentes

($W_{0,05}$) – largura do pico medida a 5% da altura

($W_{0,5}$) – largura do pico à meia altura

($W_{1,0,5}$ e $W_{2,0,5}$) – largura à meia altura do primeiro e segundo picos adjacentes

(f) – medida entre a linha perpendicular que une o máximo do pico com a linha de base e o extremo anterior do pico a 5% da altura.

Após a escolha da fase móvel foram realizados os testes de qualidade em relação aos CPP: precisão, linearidade, seletividade, limite de detecção, limite de quantificação com a fase móvel escolhida.

4.2.4.2 Precisão e Exatidão

Alíquotas foram preparadas para realização de injeções na CLAE da solução 1 e 2 (4.2.3) a partir do pó obtido e da SQR com concentrações iguais (100 µg/mL), realizadas em diferentes dias e em triplicatas sob as mesmas condições analíticas em 4.2.4.

Foram realizadas seis determinações, avaliando a precisão e exatidão por análise de repetibilidade. Os resultados foram expressos pelo desvio padrão relativo (DPR%) e a exatidão em percentual (%) de desvio em relação das concentrações médias observadas em relação ao valor nominal das concentrações empregadas.

4.2.4.3 Teste de linearidade do método

Utilizando a solução 1 (4.2.3) foram preparadas novas soluções com diferentes diluições com o intuito de verificar a linearidade do método (BRASIL, 2017) e realizar sua curva de calibração. Foram tomadas alíquotas, conforme 4.2.3 para obter amostras nas concentrações de 50, 75, 100, 125, 150 e 175 µg/mL, variando de 50 a 175% da concentração a ser trabalhada no doseamento, conforme Tabela 3. A faixa utilizada para realização da curva de calibração com a solução 2 (4.2.3) foi de 6,25 a 100 µg/mL. As injeções foram realizadas na CLAE em triplicatas para cada concentração e com a especificação (A) vide 4.2.4.

Tabela 3– Soluções de micofenolato de mofetila do pó obtido preparados para avaliação da linearidade por cromatografia líquida de alta eficiência.

Alíquota retirada (mL)	Volume empregado para diluição (metanol)	Concentração final teórica (µg/mL)
0,5	q.s.p 10 mL	50
0,75	q.s.p 10 mL	75
1	q.s.p 10 mL	100
1,25	q.s.p 10 mL	125
1,50	q.s.p 10 mL	150
1,75	q.s.p 10 mL	175

Fonte: próprio autor

4.2.4.4 Teste de seletividade por degradação forçada

Utilizando a solução 1, conforme método descrito em 4.2.3, a seletividade do método (BRASIL, 2017) foi avaliada a partir de injeções da solução adicionadas a meios de degradação distintos e submetidas a aquecimento a 60°C em banho-maria, nos intervalos de tempo de 1 a 3 horas. Em tubos de ensaios foram adicionados 2 mL da solução de MMF e 2 mL das soluções de HCl 1M (meio ácido), NaOH 1M (meio básico), H₂O₂ a 3% (meio oxidativo) e H₂O (meio aquoso), separadamente, conforme Tabela 4.

O tubo de ensaio que continha apenas água foi mantido em temperatura ambiente. Posteriormente foram avaliados por cromatografia em triplicata para analisar a degradação com 1, 2 e 3 horas com injeções de 20 µL conforme especificação (A) vide 4.2.4, em busca da avaliação dos produtos de degradação do MMF nos meios e a separação dos picos na fase móvel

estabelecida.

Tabela 4 – Reagentes e tempos utilizados para o teste de degradação forçada

Tubo	Reagente	Tempo	Meio
1	HCl 1M	1	Ácido
2	HCl 1M	2	Ácido
3	HCl 1M	3	Ácido
4	NaOH 1M	1	Básico
5	NaOH 1M	2	Básico
6	NaOH 1M	3	Básico
7	H ₂ O ₂ 3%	1	Oxidativo
8	H ₂ O ₂ 3%	2	Oxidativo
9	H ₂ O ₂ 3%	3	Oxidativo
10	H ₂ O	1	Aquoso
11	H ₂ O	2	Aquoso
12	H ₂ O	3	Aquoso

Fonte: elaborado pelo autor.

4.2.4.5 Limites de detecção e quantificação

Os limites de quantificação (LQ) e detecção (LD) foram calculados com base na inclinação e a partir do desvio padrão do intercepto obtido na curva analítica (4.2.4.3) com as equações descritas abaixo (ICH, 2005).

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

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

Legenda:

LD = Limite de detecção

LQ = Limite de quantificação

S = desvio padrão do intercepto

a = inclinação da curva analítica

4.3 Ensaio do veículo

4.3.1 Formulação do veículo para suspensão

O GUTE é o nome dado a um veículo que consiste em sua formulação a composição de goma xantana, manitol, parabenos, sucralose, edetato sódico e água purificada, que foi desenvolvido no laboratório de farmacotécnica da Universidade Federal do Ceará. Essa fórmula é considerada segura pelos seus excipientes com características pouco tóxicas, principalmente para o público pediátrico, assim como para o público geral (BARBOSA, 2012; FONSECA, 2015).

Esses excipientes são comumente utilizados em alimentos industrializados e tem classificação como “geralmente reconhecidos como seguros”, assim sendo confiáveis na sua utilização para a formulação. Um dos principais diferenciais deste veículo seria a não existência de xarope simples em sua composição, em que iria restringir a possibilidade de utilização em diabéticos, além de estar associado a maiores desconfortos gastrointestinais e também atrelado a ocorrências de obstrução da sonda (MEDEIROS, 2014; WILLIAMS, 2008).

4.3.2 Avaliação dos efeitos do pH e dos eletrólitos no comportamento reológico da formulação

Foram preparadas três amostras do veículo em concentrações de 3%, 4% e 5% para avaliar as alterações ocasionadas em sua constituição pela alteração do pH, adição de cargas de eletrólitos distintos e o comportamento reológico referente as diferentes concentrações.

Nas amostras a 4% com o auxílio de um corretor de pH foram ajustados para pH 5, 7 e 9 e avaliados em viscosímetro as diferenças relacionadas a viscosidade. Ainda com a mesma concentração foram avaliadas em amostras, separadamente, o comportamento reológico com a adição de eletrólitos monovalente (cloreto de sódio), bivalente (cloreto de magnésio) e trivalente (cloreto de alumínio). As concentrações utilizadas foram divididas em concentração 1, 2 e 3 para cada eletrólito, em que o NaCl teve 1, 2 e 3 mg adicionados, respectivamente, o MgCl₂ teve adições de 0,5, 1 e 1,5 mg e o AlCl₃ teve aumento de 0,33, 0,67 e 1 mg. As amostras eram colocadas no viscosímetro (Haake VicoTester®) com o spindle L1 e analisadas em computador pelo software, que originava os resultados pelo Microsoft Excel® 2013.

O veículo empregado no estudo já possui avaliações positivas com outros fármacos em relação ao seu comportamento reológico, pH, volume de sedimentação, tempo de redispersão e de determinação do teor do fármaco, com resultados de estabilidade compatíveis

com seu emprego e uso (SOUSA, *et. al*, 2014; MEDEIROS, 2014; BARBOSA, 2012).

4.4 Preparo das suspensões

4.4.1 Análise do peso médio dos comprimidos de MMF

Para obtenção do peso médio, foram pesados individualmente 20 comprimidos de MMF, avaliando seu peso em balança analítica e obtendo-se a média, desvio padrão e desvio padrão relativo. Posteriormente estes comprimidos foram pulverizados para constituir a suspensão (BRASIL, 2019).

4.4.2 Método de preparo da suspensão de MMF

No preparo das suspensões foram utilizados 27 comprimidos de MMF 500 mg, os quais foram triturados com o auxílio de gral e pistilo, correspondendo a 13.500 mg do fármaco, quantidade suficiente para obtenção de 14 frascos de 100 mL. Posteriormente foi acrescentado 67,5g de GUTE, veículo da formulação, constituído por goma xantana, sucralose, manitol, metilparabeno, propilparabeno, e então, acrescentado água até completar o volume de 1350 mL.

A concentração do veículo utilizado foi 5% (m/v), após testes prévios desenvolvidos, finalizando com homogeneização por agitação mecânica. A mistura foi transferida para um cálice e adicionada água destilada até completar 1350 mL, obtendo a concentração de 10 mg/mL. Para realizar a mistura foi utilizado um agitador mecânico com hélice naval, sob agitação constante até a obtenção de uma dispersão completa e sem detecção visual de grumos.

Para avaliação da estabilidade, os frascos foram armazenados e divididos para serem analisados periodicamente, (semanalmente para os armazenados em temperatura ambiente (AMB) e quinzenalmente para armazenados em temperatura refrigerada (R) – 2 a 8 °C) (ICH, 2003), conforme demonstra a Tabela 5. O D0 foi a amostra analisada no mesmo dia da preparação das suspensões.

Tabela 5 – Cronologia para análise de estabilidade sob as diferentes condições de armazenamento.

dia	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63
AMB	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
R	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-

AMB: Temperatura ambiente; R: Sob refrigeração; X: análise realizada; -: análise não realizada

4.5 Estudo de estabilidade

4.5.1 Ensaio de pH

A análise foi realizada segundo instruções da Farmacopeia Brasileira 6ª Ed. (5.2.19) utilizando o medidor Digimed D-20 com um eletrodo de vidro combinado, previamente calibrado com soluções tampões de pH 7 e pH 4.

4.5.2 Ensaio de doseamento

Os ensaios de doseamento foram realizados injetando em CLAE uma solução com a amostra e uma solução padrão para a análise, em que seriam comparadas com o obtido do SQR.

Amostra: A suspensão de 10 mg/mL era agitada e então eram pesados 2g e acrescentado metanol em um balão volumétrico de 10 mL, obtendo uma concentração aproximada de 2 mg/mL, que era colocada em sonicação por 10 minutos. Após esse primeiro processo, era retirado 1 mL do sobrenadante dessa amostra e em um outro balão volumétrico diluído até 10 mL com o diluente (álcool metílico e água – 55:45), posteriormente era preparada uma alíquota com 5 mL da amostra com 5 mL do diluente (álcool metílico e água – 55:45) resultando em uma concentração aproximada de 100 µg/mL a ser injetada na CLAE.

Solução padrão: Foram pesados 20 mg do pó obtido em 4.2.2 e diluídos em um balão volumétrico em metanol, posteriormente a sonicação por 10 minutos, obtendo uma solução de 2 mg/mL, em que viria a ser retirados 1 mL do sobrenadante e diluído em um outro BV de 10 mL com o diluente (álcool metílico e água 55:45), posteriormente eram retirados 5 mL dessa solução e em outro BV adicionados 5 mL do diluente, resultando em uma solução com concentração de 100 µg/mL.

As análises foram realizadas em acordo com a especificação (A) vide 4.2.4.

4.5.2.1 Adequação do sistema de análise cromatográfica

Nas análises das suspensões por CLAE, evidenciou-se picos sobrepostos, portanto foi avaliada a fase móvel recomendada de micofenolato de sódio pela mesma farmacopeia, utilizando uma solução de metanol e ácido fosfórico 0,05% 65:35 (v/v) como fase móvel e como diluente uma solução de metanol e água (55:45) em uma coluna C18 a 45°C e utilizando comprimento de onda igual a 250 nm para detecção, com fluxo de 1,5 mL/min, assim adaptando para melhor tempo de retenção e sem picos sobrepostos, sendo avaliados pelos mesmos

parâmetros presentes na Tabela 2.

4.5.3 Ensaios de comportamento reológico

O ensaio foi realizado em viscosímetro rotacional Haake Visco Tester 6L, com fuso L1, nas velocidades compreendidas entre 0,3 e 200 rpm. O comportamento reológico foi obtido a partir do software Visco Tester que demonstra em forma de gráfico a relação entre a viscosidade e a velocidade, a partir das variáveis empregadas na lei das potências, na equação abaixo:

$$\tau = k \cdot \gamma^n$$

Onde: τ = tensão de cisalhamento

K = índice de consistência ou de viscosidade

γ = velocidade de rotação

n = índice de comportamento do fluxo

O valor que corresponde ao n , quando dentro do intervalo que $0 < n < 1$, o fluido é de comportamento pseudo-plástico.

4.5.4 Ensaios de densidade

A densidade relativa da suspensão foi calculada para cada amostra através dos ensaios com o picnômetro de vidro. Realizou-se a pesagem do picnômetro vazio e depois com a amostra, com a diferença dos pesos sobre o volume da vidraria, obtinha-se o valor referente da amostra em relação a água (BRASIL, 2019).

$$\rho = \frac{m_2 - m_1}{v}$$

Onde: ρ = densidade relativa

m_2 = massa do picnômetro cheio com a suspensão

m_1 = massa do picnômetro vazio

v = volume do picnômetro calibrado

4.5.5 Ensaios de microscopia óptica

Os ensaios de microscopia foram realizados com a retirada de duas gotas da suspensão após a agitação com uma pipeta de Pasteur e aplicados uma gota de água, adicionando uma lamínula, foram captadas imagens para todas as amostras a partir do aumento das objetivas, somadas ao aumento de uma câmera, acoplada ao microscópio óptico.

4.5.6 Estudo da cinética de degradação do MMF

A ordem de reação da cinética de degradação do MMF foi determinada a partir da concentração residual em função do tempo (ordem zero), log da concentração em função do tempo (primeira ordem) e inverso da concentração em função do tempo (ordem dois). Os estudos foram realizados a partir dos coeficientes de regressão linear (r) obtidos a partir dos ensaios de comportamento reológico e os ensaios de doseamento, assim obtendo os parâmetros cinéticos de constante da velocidade da reação (k) e podendo estipular o prazo de validade, a partir do período de vida útil ($t_{90\%}$), que é o tempo em que 90% da concentração do fármaco se demonstra inalterada.

As equações abaixo são utilizadas para realizar essas avaliações:

$$C = C_0 - kt \text{ (ordem zero)}$$

$$\ln C = \ln C_0 - kt \text{ (primeira ordem)}$$

$$1/C = 1/C_0 - kt \text{ (segunda ordem)}$$

Onde:

C_0 = concentração dos reagentes no tempo zero

C = concentração após reação no tempo

K = constante da velocidade

4.6 Comparação experimental da administração por sondas nasoenteral e nasogástrica

A experimentação da administração por sondas de suspensão foi baseada na técnica descrita por White e Brandnam (2007), que compreende as seguintes etapas:

- Lavar a sonda com água, conforme recomendações hídricas;
- Checar se necessita de intervalo da alimentação enteral para poder administrar ou não;
- Quando se tratar de suspensão, agitar o frasco;
- Aspirar com seringa e volume apropriado;
- Administrar na sonda;
- Realizar lavagem com água;
- Ligar novamente a dieta enteral, checando a necessidade de intervalos ou não para o fármaco.

Com o intuito de avaliar o comportamento da suspensão ao ser submetida a passagem por sonda, foram utilizadas uma sonda nasoenteral nº 08 e uma sonda nasogástrica

14fr. A sonda foi previamente lavada com 10 mL de água destilada; em seguida, foi utilizada para a passagem de 10mL da formulação adaptada e, imediatamente lavada com 10 mL de água destilada. Todo o volume foi recolhido em balão volumétrico de 100 mL e posteriormente completado com água.

Solução amostra: Da solução final de 100 mL, obteve uma concentração de 1 mg/mL, com isto foi preparada uma alíquota com o intuito de obter uma solução da concentração igual a 100 µg/mL. Foi retirado 1 mL da solução obtida da administração e colocada em sonicação em um balão volumétrico de 10 mL com metanol, obtendo uma concentração de 0,1 mg/mL, após isso foram retirados 5 mL do sobrenadante dessa solução e solubilizados com o diluente (metanol e água 55:45) em um balão volumétrico de 50 mL obtendo uma concentração de 100 µg/mL. A mistura final foi submetida à avaliação do teor do fármaco em estudo que, ao ser comparado com a quantidade teórica, será quantificada a recuperação do fármaco que chega ao balão volumétrico.

A solução padrão para análise foi desenvolvida conforme descrição em tópico 4.2.3.

5 RESULTADOS

5.1 Processo extrativo de Micofenolato de Mofetila a partir dos comprimidos

Conforme descrito em método (4.2.2) foi obtido uma solução homogênea após a pulverização dos comprimidos e diluição em metanol. Ao ser adicionado a água na placa de Petri junto com a solução advinda do pó dos comprimidos, foi possível ver o aparecimento de cristais no fundo da placa. Após o período de 24 horas na estufa, foi obtido um pó cristalino branco. Uma parte do pó foi colocado em uma lamínula e adicionado água, assim foi analisado em microscópio óptico com a objetiva de aumento de 20 (Figura 2A) e 40 (Figura 2B), demonstrando em imagem os cristais de micofenolato de mofetila.

Figura 2 – Análise microscópica dos cristais com aumento de 20 vezes (1A) e 40 vezes (1B), sob aumento de câmera digital não quantificado.



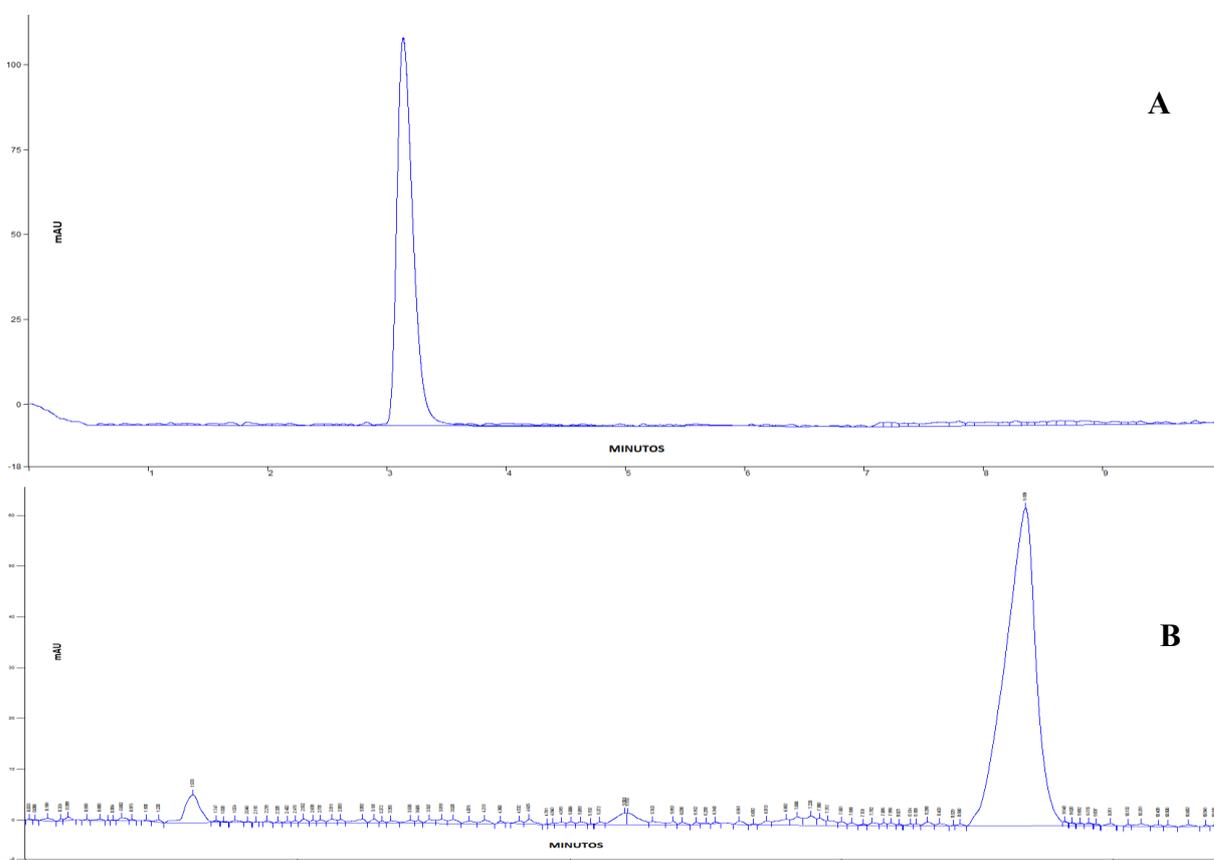
Fonte: acervo pessoal

5.2 Determinação das condições cromatográficas e identificação do MMF

A solução 2 (4.2.3) preparada a partir do micofenolato de mofetila extraído dos comprimidos foi utilizada para identificação, comparando o tempo de retenção do pico obtido pelo MMF SQR (Figura 4). A solução com padrão foi preparada com a mesma metodologia (Figura 3A) após as adequações necessárias. Os tempos de retenção verificados na amostra do pó obtido e em relação ao SQR foram similares.

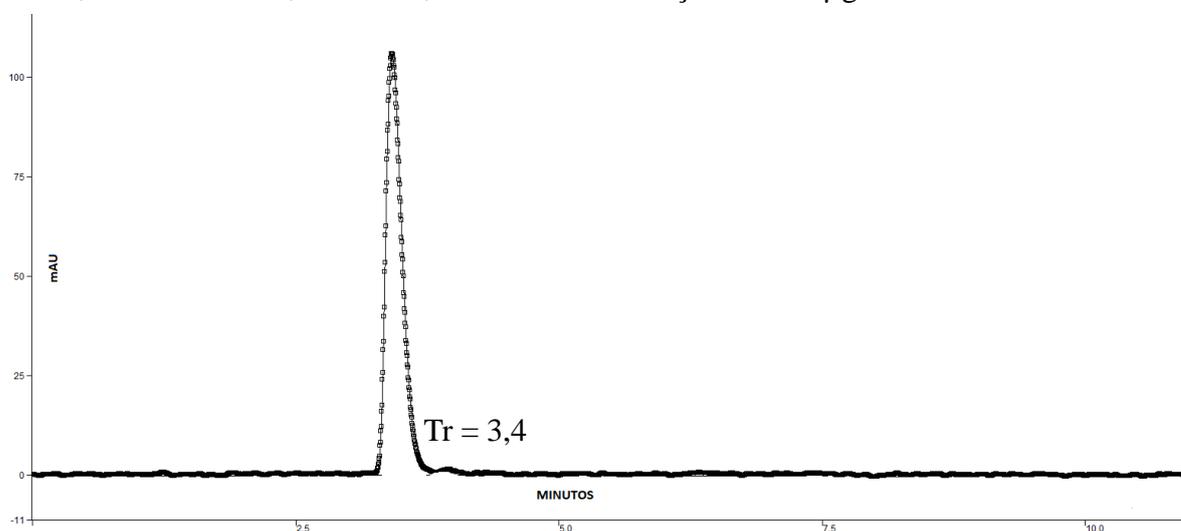
O cromatograma (Figura 3B) utilizando as condições de análise da especificação B da Tabela 2 mostra picos assimétricos, com tempo de retenção acima de 10 minutos e outros picos foram visualizados, em comparação com a linha de base, sendo ocasionados pela diferença de hidrocarbonetos presentes nas colunas utilizados, assim como a polaridade diferente entre as fases móveis. O cromatograma da Figura 3A mostra melhores resultados em relação aos atributos de critérios de qualidade, com pico simétrico e menor tempo de retenção, sem outros picos adjacentes notáveis em comparação a linha de base.

Figura 3 – Cromatograma representativo de solução de micofenolato de mofetila – pó obtido, (A) sob condições de análises: metanol e ácido fosfórico 0,05% (55:45), em uma coluna C18 a 45°C e utilizando $\lambda = 250$ nm, com fluxo de 1,5 mL/min. (B) acetonitrila e trietilamina 0,3% pH 3,0 (35:65), fluxo 1,5 ml/min, coluna C-18 a 45 °C e detecção em λ 250 nm



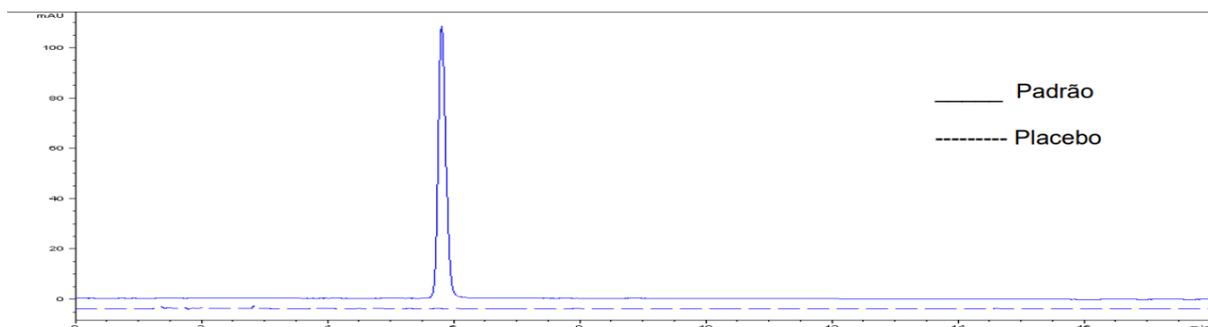
Na figura 4 observamos que o cromatograma utilizando a solução com o MMF – SQR demonstrou ter bastante similaridade com o do pó obtido a partir do método extrativo, quando analisados os ACQ de ambos os cromatogramas. Em comparativo, na Figura 5 obtido da análise do estudo de COSTA (2009) fica perceptível a semelhança entre os picos, relacionados aos atributos de critérios de qualidade, apesar da diferença entre os tempos de retenção, devido as diferenças de condições de análise.

Figura 4 – Cromatograma representativo da solução de micofenolato de mofetila-SQR, sob condições de análise: metanol e ácido fosfórico 0,05% (55:45), em uma coluna C₁₈ a 45°C e λ 250 nm, com fluxo de 1,5 mL/min, em uma concentração de 108 μ g/mL.



Fonte: Acervo pessoal. Tr = Tempo de retenção.

Figura 5 - Cromatograma representativo da solução de micofenolato de mofetila padrão utilizado no estudo de COSTA (2009), sob condições de análise: acetonitrila e trietilamina 1% pH 3,0 (30:70), em uma coluna C₈ a 45°C e λ 250 nm, com fluxo de 1,5 mL/min.



Os parâmetros conforme demonstrados na Tabela 6 foram avaliados e identificados que estavam dentro das especificações necessárias para uma metodologia eficiente de análise, caracterizando assim uma a condição cromatográfica para realizar as avaliações dos ensaios.

Tabela 6 – Valores expressos dos parâmetros mensurados em relação as análises empregadas na aplicação das diferentes fases móveis.

Parâmetros avaliados	Especificação (A)* – Solução 1	Especificação (B)* – Solução 2
Fator de capacidade (k)	1,26	0,6
Resolução	Sem análise	Sem análise
Fator de cauda (T)	1,44	0,4
Número de pratos (N)	53.424	38.248

Legenda: (*) Especificações conforme tópico 4.2.4

Em detrimento da presença de maior simetria, assim como os outros ACQ e somados aos resultados dos parâmetros avaliados, optou-se pela fase móvel da especificação 1 (4.2.3) para realização do estudo.

5.3 Linearidade (curva de calibração)

As curvas analíticas referentes às alíquotas advindas da solução 1 e 2 (4.2.3) foram obtidas nas faixas de 6,25 a 100 µg/mL (Figura 6) e 50 a 175 µg/mL (Figura 7), respectivamente. Após análise de regressão linear, foram obtidos resultados significativos, onde em ambas, o intercepto apresentou resultado diferente de zero, o coeficiente angular apresentou valor significativamente diferente de zero, e o valor do coeficiente de correlação foi próximo de 1, o que indica estreita correlação entre as concentrações e os valores das áreas obtidas dos cromatogramas, portanto os dados se ajustaram de forma adequada ao modelo de regressão.

Figura 6 – Representação gráfica da curva analítica das soluções de MMF-SQR em concentrações de 6,25 a 100 µg/mL.

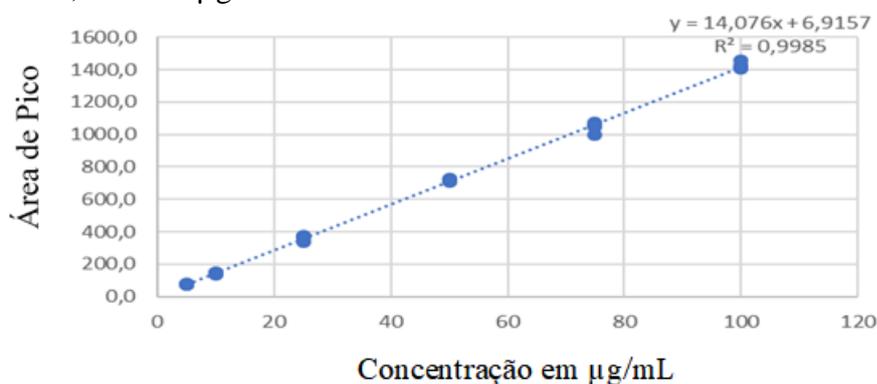
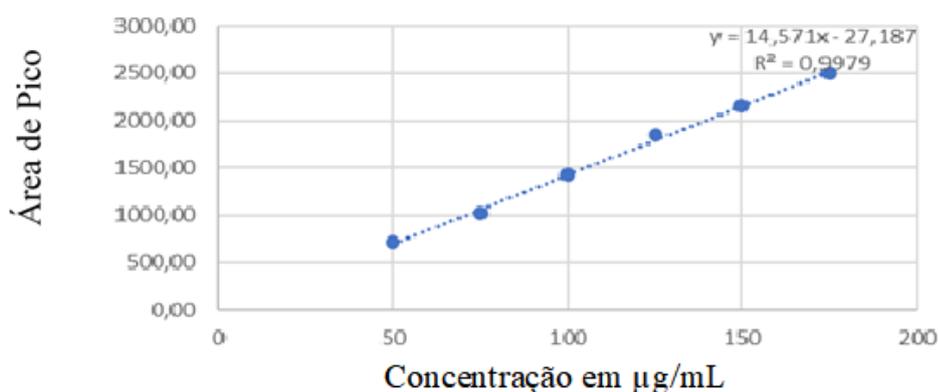


Figura 7 – Representação gráfica da curva analítica das soluções de pó obtido de MMF em concentrações de 50 a 175 µg/mL.



5.4 Precisão e Exatidão

Foram realizadas as determinações de MMF dentro do escopo estudado avaliando e comparando a solução 1, preparada a partir do pó obtido da extração dos comprimidos, com a solução 2, preparada com a SQR. Foram preparadas seis amostras, com concentração nominal de 100,3 µg/mL, sendo avaliadas por repetibilidade no mesmo dia, os resultados estão expressos na Tabela 7.

Os resultados foram expressos a partir da média calculada das amostras, obtendo exatidão igual a 100,3%, desvio padrão igual a 0,1 e um coeficiente de variação de 0,099% (Tabela 7), estando esses parâmetros em conformidade com as exigências descritas em BRASIL (2017).

Tabela 7 – Determinações da concentração, desvio padrão e desvio padrão relativo referente ao teste de repetibilidade realizados com as amostras da solução contendo o micofenolato de mofetila obtido dos comprimidos em comparativo com a solução de micofenolato de mofetila – SQR.

Amostra	Concentração (µg/mL)		Exatidão	Desvio Padrão	CV (%)
	Esperada	Calculada*			
Solução de MMF			100,3%	0,1	0,099
1	100,3	100,6			

Fonte: acervo pessoal; legenda: (*): média das amostras.

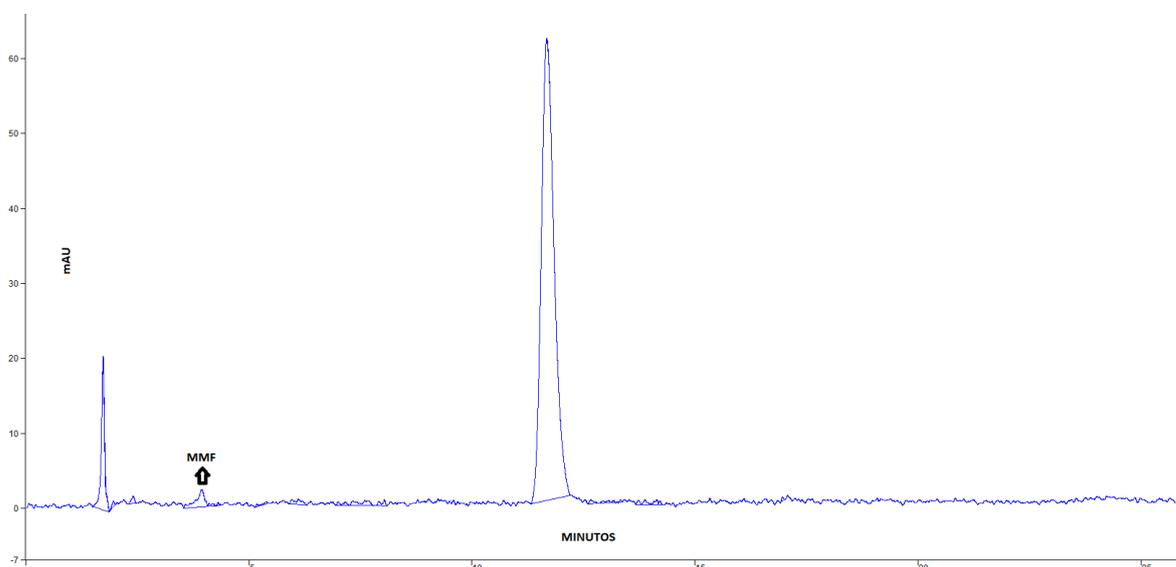
5.5 Seletividade (teste de degradação forçada)

A suspensão de MMF submetida ao meio alcalino, ácido, oxidativo e aquoso não apresentaram mudanças macroscópicas perceptíveis ao longo do tempo em degradação, porém

foi perceptível a formação de produtos de degradação quando analisadas por CLAE.

Com os cromatogramas gerados após o teste de degradação forçada pode-se perceber que a tendência maior de degradação ocorre em meio alcalino (Figura 8) e oxidativo (Figura 9). O MMF em meio ácido se demonstra sob degradação, porém com menor proporção que os outros meios. O meio aquoso sem aquecimento serviu como parâmetro de comparação para as outras análises.

Figura 8 - Cromatograma da degradação alcalina após 1 hora sob 60°C do MMF- pó extraído, solução de 100 µg/mL. Condições de análise: metanol e ácido fosfórico 0,05% 55:45 (v/v) em uma coluna C-18 a 45°C e utilizando $\lambda = 250$ nm, com fluxo de 1,5 mL/min.



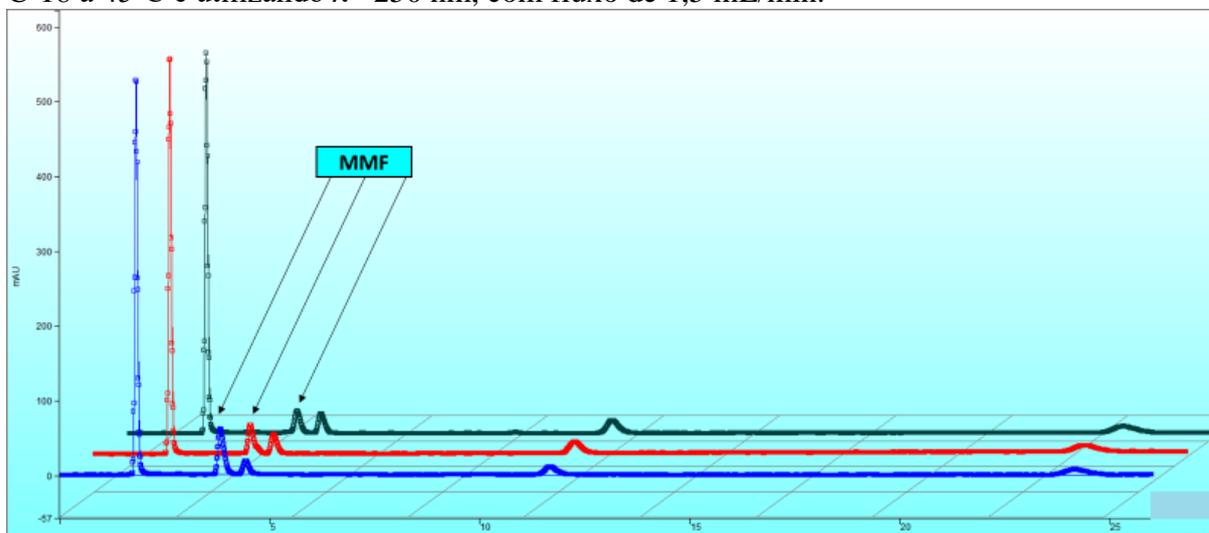
Fonte: acervo pessoal

No meio básico foi apresentada extensa degradação do micofenolato de mofetila em ácido micofenólico com 1 hora, no meio ácido (Figura 10), oxidativo (Figura 9) e aquoso (Figura 11) ficaram perceptíveis os picos relacionados à identificação dos produtos de degradação, tornando assim possível a utilização do método para avaliação de sua estabilidade e também verificando a condição de pH ideal para realizar a suspensão, em vista dos possíveis produtos de degradação gerados.

Na degradação oxidativa (Figura 10) é possível notar extensa degradação com 1 hora do ensaio e que esse padrão se manteve nos horários seguintes, com 2 e 3 horas. O produto de degradação principal nos cromatogramas deste meio foi identificado em tempo de retenção menor ao que do MMF, conforme demonstrado na figura e representando pela linha indicadora. Os picos que aparecerem após a primeira hora do ensaio, se mantiveram após 3 horas com

pouca diferenciação perceptível em cromatograma.

Figura 9 - Cromatograma da degradação oxidativa do MMF- pó extraído, solução de 100 $\mu\text{g/mL}$. Condições de análise: metanol e ácido fosfórico 0,05% 55:45 (v/v) em uma coluna C-18 a 45°C e utilizando $\lambda = 250 \text{ nm}$, com fluxo de 1,5 mL/min.

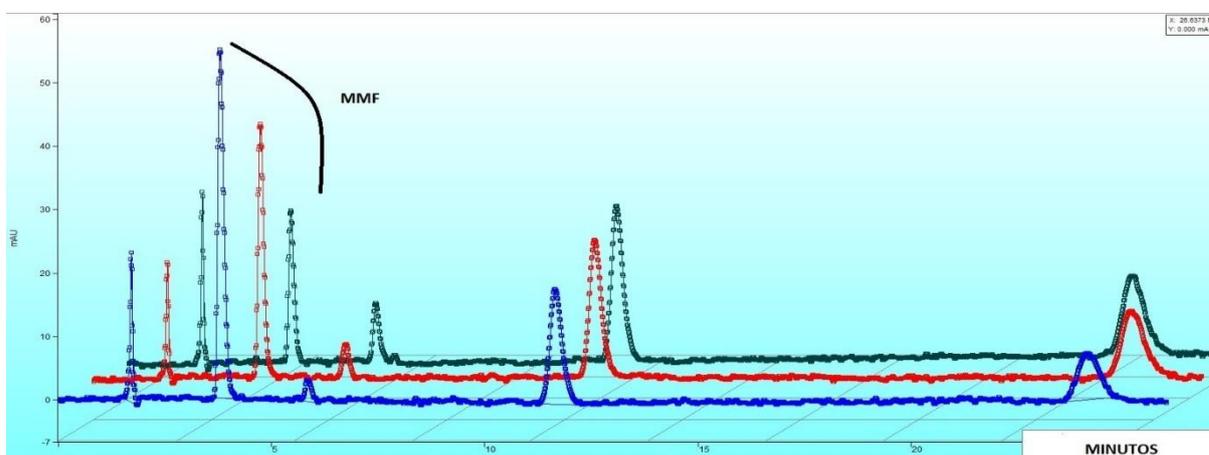


Legenda: Após 1 hora (azul), após 2 horas (vermelho), após 3 horas (verde).

Fonte: acervo pessoal

Após os testes de degradação, o meio que demonstrou menor capacidade de degradação do micofenolato de mofetila foi o meio acidificado, em vista que após 3 horas teve uma degradação menos acentuada que nos outros meios, norteadando assim a escolha da faixa de pH para conduzir a formulação da suspensão. Infere-se que em um veículo com pH ligeiramente ácido, promova maior estabilidade do fármaco.

Figura 10 - Cromatograma da degradação ácida do MMF- pó extraído, solução de 100 $\mu\text{g/mL}$. Condições de análise: metanol e ácido fosfórico 0,05% 55:45 (v/v) em uma coluna C18 a 45°C e utilizando $\lambda = 250 \text{ nm}$, com fluxo de 1,5 mL/min. Degradação após 1 hora (azul), após 2 horas (vermelho), após 3 horas (verde).

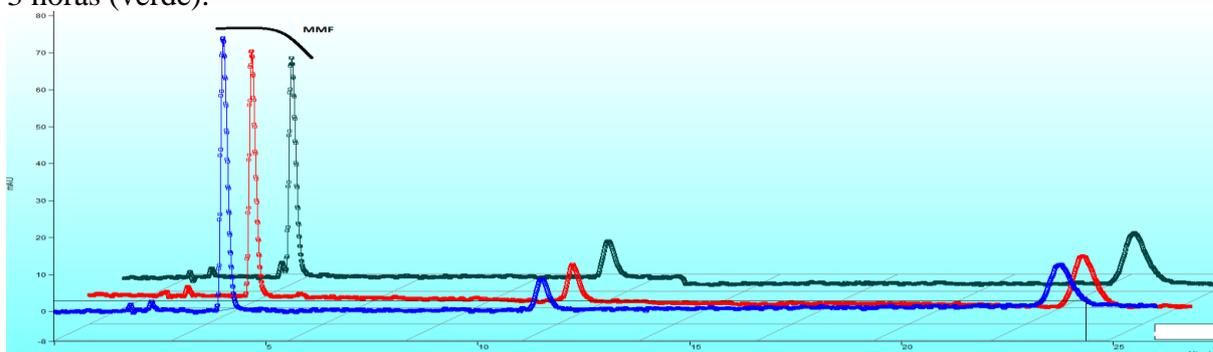


Fonte: próprio autor

No ensaio em que a suspensão foi diluída em meio aquoso obteve-se um padrão de poucas mudanças durante as 3 horas. Mesmo assim houve uma diminuição na área dos picos referentes ao MMF e aparecimentos de produtos de degradação, com substâncias saindo com tempo de retenção em torno de 12 e 24 minutos, em menor proporção que em outros meios, assim como em menor intensidade de degradação.

Figura 11 - Cromatograma da degradação em meio aquoso de MMF- pó extraído, solução de 100 µg/mL. Condições de análise: metanol e ácido fosfórico 0,05% 55:45 (v/v) em uma coluna C18 a 45°C e utilizando $\lambda = 250$ nm, com fluxo de 1,5 mL/min.

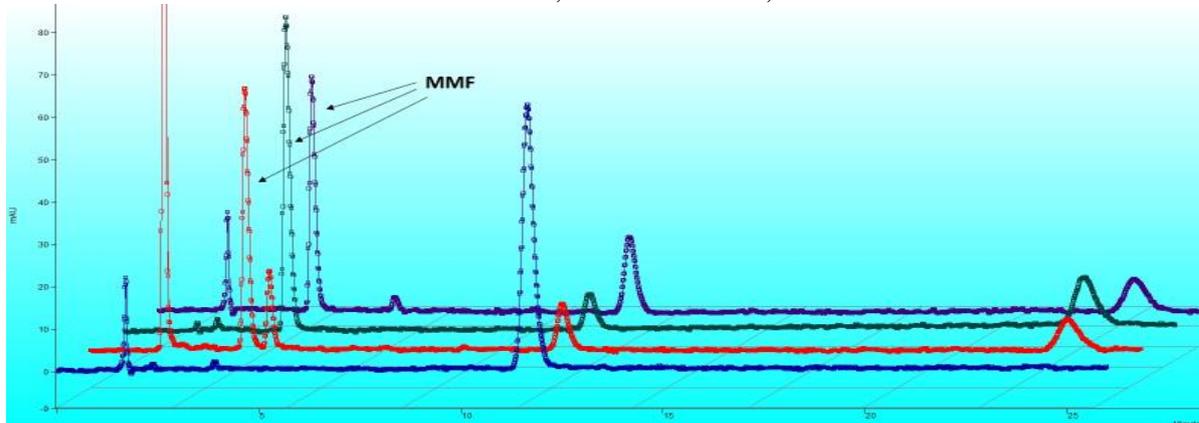
Legenda: Degradação após 1 hora (azul), degradação após 2 horas (vermelho), degradação após 3 horas (verde).



Fonte: próprio autor

Realizando a comparação entre os picos com 1 hora de degradação nos diferentes meios (Figura 12) é possível avaliar que em meio oxidativo houve a formação do pico de maior proporção em área, do que em outros meios.

Figura 12 – Cromatogramas de comparação da degradação em meio alcalino (azul), oxidativo (vermelho), aquoso (verde), ácido (roxo) de MMF após 1 hora de ensaio, com uma solução de 100 µg/mL. Condições de análise: metanol e ácido fosfórico 0,05% 55:45 (v/v) em uma coluna C18 a 45°C e utilizando $\lambda = 250$ nm, com fluxo de 1,5 mL/min



Fonte: próprio autor

As resoluções dos picos nas análises se demonstraram eficientes para separação em relação aos produtos de degradação, apresentando resoluções aceitáveis e simetrias em todas as análises realizadas, exceto as com extensa degradação. O método foi considerado então seletivo para MMF.

5.6 Limite de detecção e Limite de quantificação

Os limites de detecção e quantificação que foram estimados a partir da curva de calibração obtida com a solução de MMF extraído dos comprimidos foram 9,18 $\mu\text{g/mL}$ e 27,83 $\mu\text{g/mL}$. E os resultados relacionados a curva analítica obtida das soluções com SQR foram de limite de detecção igual a 1,48 $\mu\text{g/mL}$ e limite de quantificação igual a 4,49 $\mu\text{g/mL}$.

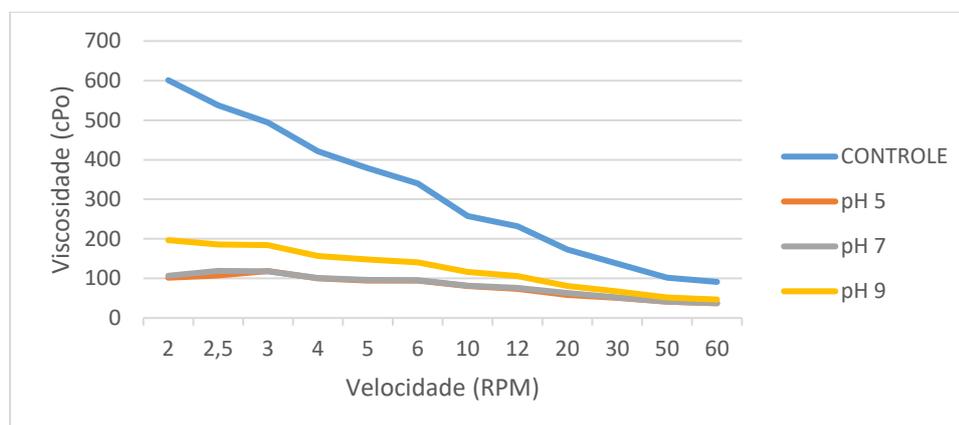
5.7 Ensaio do veículo

5.7.1 Avaliação dos efeitos do pH e dos eletrólitos no comportamento reológico da formulação

A concentração escolhida de GUTE foi baseada em avaliação de fatores que pudessem alterar principalmente a sua viscosidade, em vista do intuito de manter uma boa osmolaridade para a administração por sonda e uma melhor viscosidade. Foram avaliados o efeito do pH, efeito dos eletrólitos e avaliada a correlação linear para cada concentração.

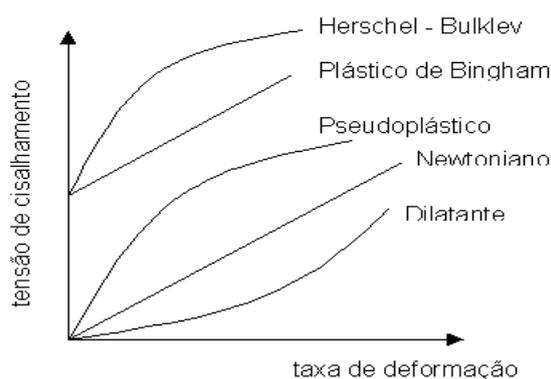
A análise do pH inferiu que as faixas de pH de 5, 7 e 9 (Figura 13) realizaram uma diminuição da viscosidade em relação ao controle e que conforme aumentando a valência de eletrólitos (Figura 15) adicionados ocorre também a diminuição da viscosidade. Essas avaliações indicam que essas interferências em relação a viscosidade são de baixa relevância, pois isso ocorre principalmente, em menores velocidades de rotação, em vista que será recomendada a agitação prévia da suspensão anteriormente a administração da sonda.

Figura 13 – Efeito do pH sobre a viscosidade do veículo



As diferentes formas de fluxos dos fluídos (Figura 14) estão relacionadas a fatores importantes para formulações extemporâneas como a sedimentação, tamanho das partículas, redispersão. Esses fatores garantem vantagens que aumentam a efetividade e segurança do tratamento, principalmente quando o fluído do medicamento avaliado for pseudoplástico, garantindo sedimentação lenta, com fácil redispersão.

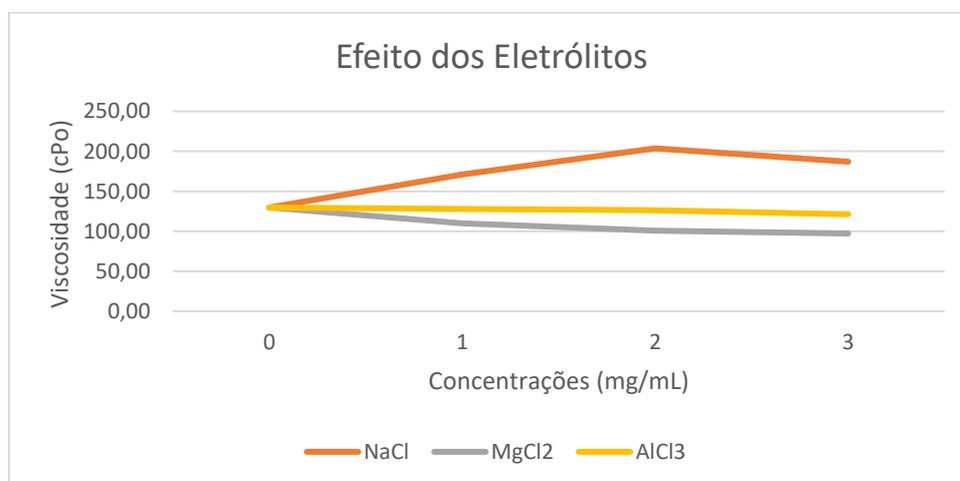
Figura 14 – Curvas representativas dos fluxos de diferentes fluídos



Fonte: edisciplinas.usp.br

Uma relação importante observada em relação ao efeito dos eletrólitos é que quanto maior a valência o cátion adicionado (Figura 15) ao veículo, menor foi a viscosidade, o que se infere a necessidade do cuidado em utilizar concentrações altas de eletrólitos na composição do veículo, já evidenciado no estudo utilizando a formulação à base de goma xantana (FONSECA, 2015).

Figura 15 – Efeito dos eletrólitos sobre a viscosidade do veículo

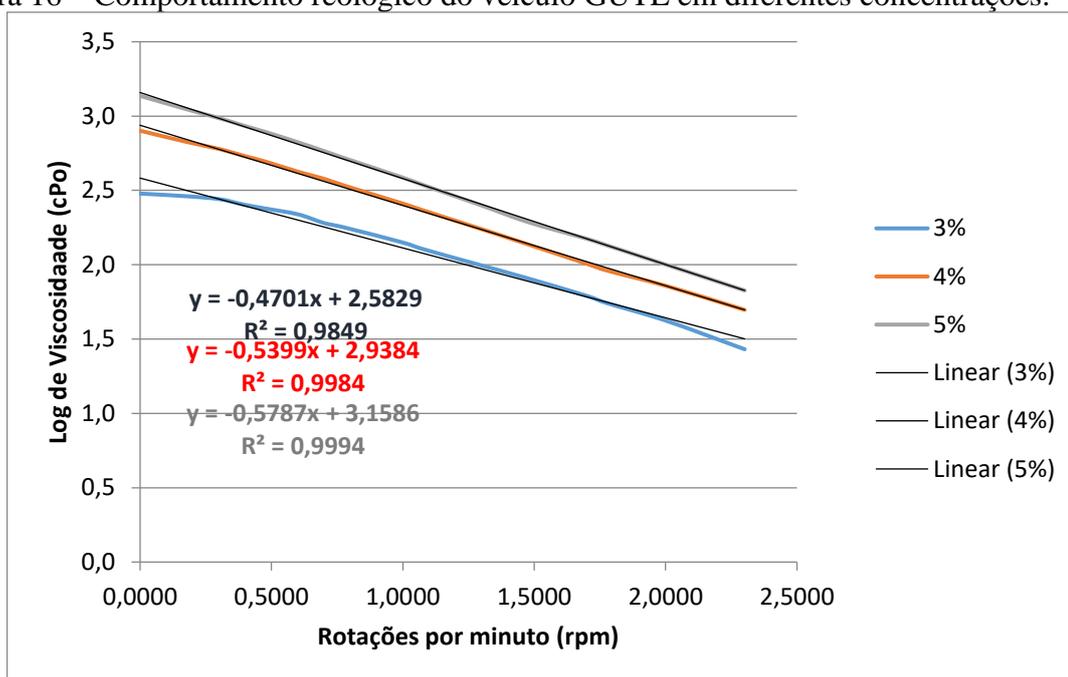


Legenda: Concentrações de NaCl (1,2 e 3 mg)*, Concentrações de MgCl₂ (0,5, 1 e 1,5 mg)*, Concentrações de AlCl₃ (0,33, 0,67 e 1 mg)*. (*) As sequências de concentrações expressas

correspondem a sequência representada em 1,2 e 3 no gráfico.

A correlação que obteve melhor linearidade entre a viscosidade e a velocidade se comparado o veículo entre as concentrações de 3%, 4% e 5%, foi a de 5% apresentando valor de r^2 igual a 0,9994 (Figura 16), com o valor mais próximo de 1. O fator preponderante para a escolha da concentração foi a intensidade do efeito que a concentração teve sobre o comportamento reológico e sobre a viscosidade.

Figura 16 – Comportamento reológico do veículo GUTE em diferentes concentrações.



5.8 Preparo das suspensões

O método de preparo das suspensões foi considerado simples e prático, obtendo facilidade para a dispersão no comprimido no veículo. A característica importante a ser evidenciada é a dispersão homogênea de partículas brancas originadas do núcleo dos comprimidos, num líquido de cor rosada devido a presença do revestimento dos comprimidos de MMF utilizados.

5.8.1 Análise do peso médio dos comprimidos de MMF

A tabela 8 traz a relação entre os pesos dos comprimidos, com o peso médio e desvio padrão e desvio padrão relativo. A variação ocorrida está dentro do estabelecido pelos limites da farmacopeia brasileira (BRASIL, 2019), com variação de $\pm 7,5\%$. O peso máximo obtido foi

de 0,9477g e o peso mínimo foi de 0,9199g, sendo assim consideradas aptas para o preparo da suspensão.

Tabela 8 – Peso individual dos comprimidos de MMF, peso médio e desvio padrão relativo.

Comprimido	Peso individual (g)	Peso médio (g)	Desvio padrão (g)	DPR (%)
1	0,9294			
2	0,9320			
3	0,9338			
4	0,9374			
5	0,9326			
6	0,9276			
7	0,9302			
8	0,9375			
9	0,9329			
10	0,9396			
11	0,9355			
12	0,9374			
13	0,9350	0,9332	0,0054	0,5794 %
14	0,9309			
15	0,9477			
16	0,9284			
17	0,9310			
18	0,9330			
19	0,9199			
20	0,9313			

Fonte: próprio autor

5.9 Estudo de estabilidade

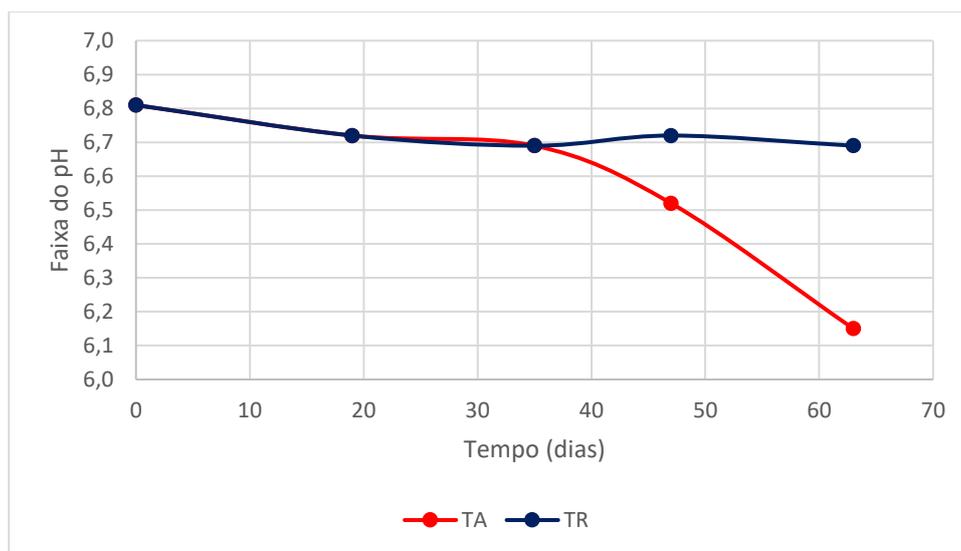
5.9.1 Ensaios de pH

O pH nas formulações (Figura 17) em temperatura ambiente obteve comportamento semelhante ao longo do intervalo de tempo estipulado, com resultado inicial de 6,81 e apresentando queda na última amostra, com pH igual a 5,58. Nos dois primeiros meses ocorreu a variação apenas de 6,81 para 6,15 nas amostras em TA. Nas amostras em refrigeração houve uma variação ainda menor, de 6,81 para 6,69, no decorrer de dois meses.

As amostras mantiveram o valor do pH quase constante ao longo dos primeiros 30 dias, mas depois houve uma queda mais acentuada nas suspensões armazenadas à temperatura ambiente.

Considerando a proporcionalidade, ao longo dos dias avaliados em temperatura ambiente, houve uma redução de 9,69% do pH inicial, em temperatura refrigerada essa porcentagem foi bastante inferior, de apenas 1,76%.

Figura 17 – Resultados da análise de pH ao longo dos dias em temperatura ambiente (TA) e em temperatura refrigerada (TR).



Fonte: próprio autor

Não houve mudança na coloração ou odor ao longo de todo o período da formulação caracterizada por uma coloração rosa clara com partículas brancas dispersas, devido ao revestimento dos comprimidos, assim como não houve observação de gases.

5.9.2 Ensaios de doseamento

Na análise do teor de princípio (Figura 18) ativo obteve-se 97,25% no dia 0 e após 28 dias em temperatura ambiente, o teor chegou a 83,1%, as amostras refrigeradas, obteve-se teor de 86,46% após 63 dias. Na avaliação de administração pela sonda nasoenteral, obteve-se 95,75% de teor em relação ao que foi administrado, já na sonda nasogástrica obteve-se apenas 91,67%.

A variação no doseamento fica expressa na Tabela 9 em que é perceptível uma maior degradação do teor de ativo quando em temperatura ambiente, comparado as suspensões mantidas em temperaturas refrigeradas. Uma queda de 23,91% ocorreu durante o período armazenado em TA, já em TR a queda até a última análise foi de apenas 10,78%.

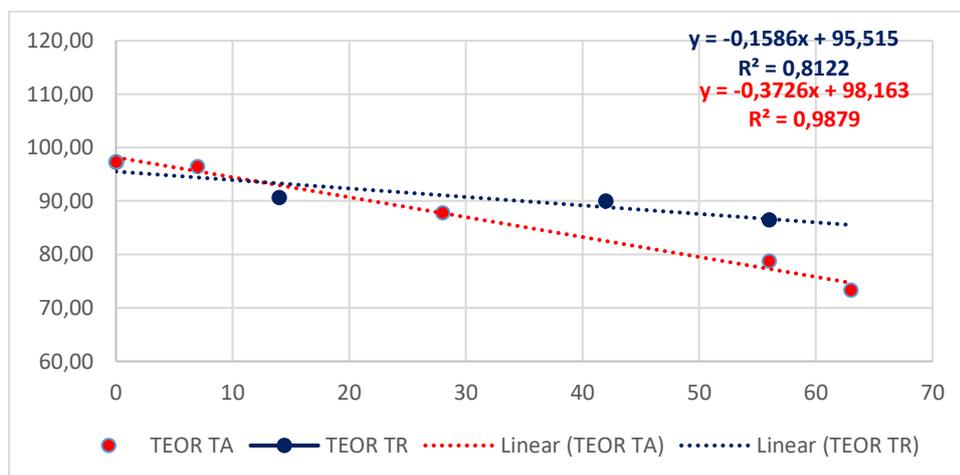
Tabela 9 – Porcentagem dos teores obtidos a partir de análise por cromatografia líquida de alta eficiência em relação as suspensões armazenadas em temperatura ambiente e temperatura refrigerada.

DIA	TEOR TA	TEOR TR
0	97,24%	97,24%
7	96,41%	-
14	86,34 %	90,62%
21	83,09 %	-
28	87,74%	99,52%
35	90,15%	-
42	93,51%	89,97%
49	117,19%	-
56	78,71%	86,46%
63	73,33%	-

Legenda: (-) sem análise

Os dados apresentados na tabela 9 só foram analisados depois de cada tempo de coleta e após a realização de todas as corridas cromatográficas do dia de coleta. Portanto, os valores encontrados não puderam ser corrigidos a tempo de evitar valores em que se observa aumento da concentração, que é uma situação absolutamente irreal. Assim sendo, considerando apenas os valores que expressam o decaimento do teor de micofenolato de mofetila ao longo do tempo em cada uma das situações de conservação, chega-se ao gráfico de evolução cinético representado na figura 18, que será analisado quanto a cinética, ordem de reação, velocidade e determinação do prazo de validade no item 5.9.6.

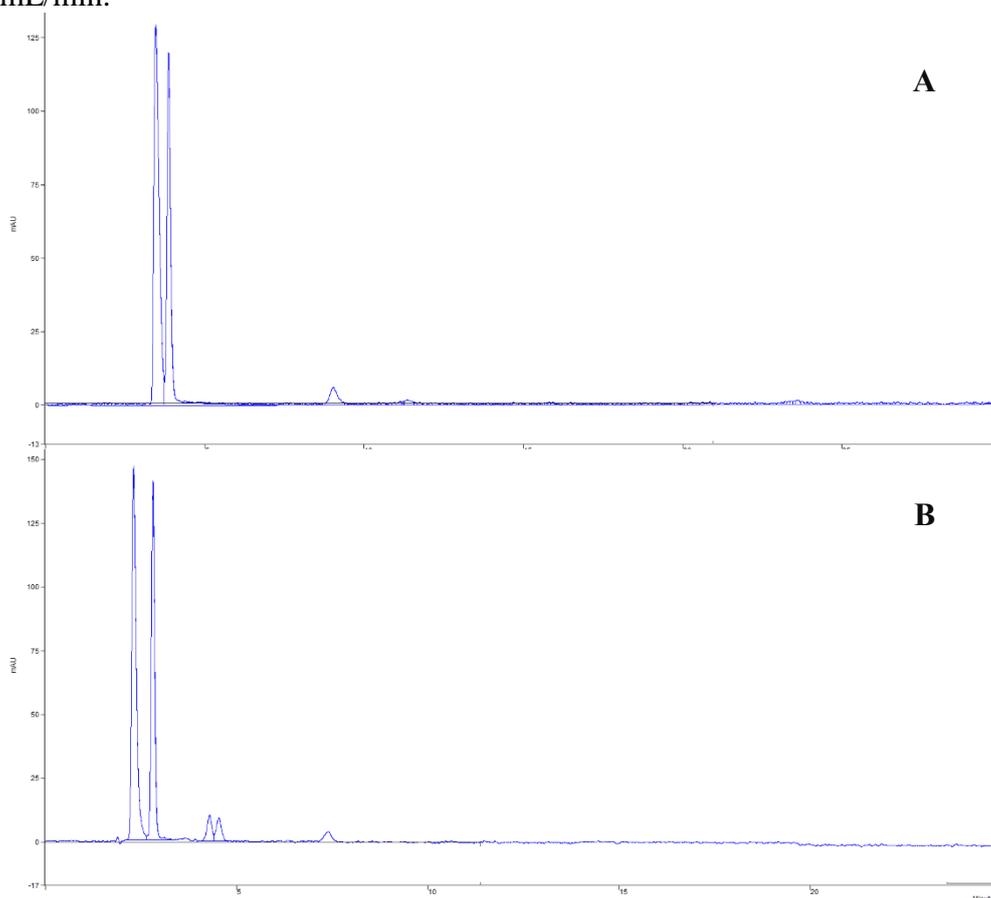
Figura 18 - Resultados da análise de teor ao longo dos dias em temperatura ambiente (TA) e em temperatura refrigerada (TR).



5.9.2.1 Adequação do sistema de análise cromatográfica

Na análise de doseamento foi evidenciado que havia picos sobrepostos (Figura 19) com a utilização de uma fase móvel na concentração de (A) 55:45 de metanol e ácido fosfórico 0,05%, por isso ocorreu o ajuste para a concentração de 65:35 (B) para facilitar o doseamento. A figura demonstra a mudança em relação as fases móveis com e sem os picos sobrepostos. Foram também realizados os cálculos de resolução para verificar o impacto da alteração da fase móvel nesse parâmetro.

Figura 19 - Cromatograma representativo da suspensão de micofenolato de mofetila, sob condições de análises: (A) metanol:ácido fosfórico 0,05% (55:45), fluxo 1,5 ml/min, coluna C18 a 45°C e detecção em $\lambda = 250$ nm (B) - Cromatograma representativo da análise de suspensão de micofenolato de mofetila, sob condições de análise: metanol e ácido fosfórico 0,05% (65:35), em uma coluna C18 a 45°C e utilizando $\lambda = 250$ nm, com fluxo de 1,5 mL/min.



Fonte: próprio autor

Os parâmetros se demonstram mais adequados perante os valores de referência quando analisados pelas condições utilizadas para o cromatograma demonstrado na Figura 19B, conforme mostra a Tabela 10.

Tabela 10 – Parâmetros avaliados comparados as concentrações das fases móveis empregadas na adequação do sistema de análise cromatográfico

Parâmetros avaliados	Picos sobrepostos	Picos separados
Fator de capacidade (k)	2,52	2,16
Resolução	1,0	1,7
Fator de cauda (T)	Sem análise	1,8
Número de pratos (N)	13.863	5.480

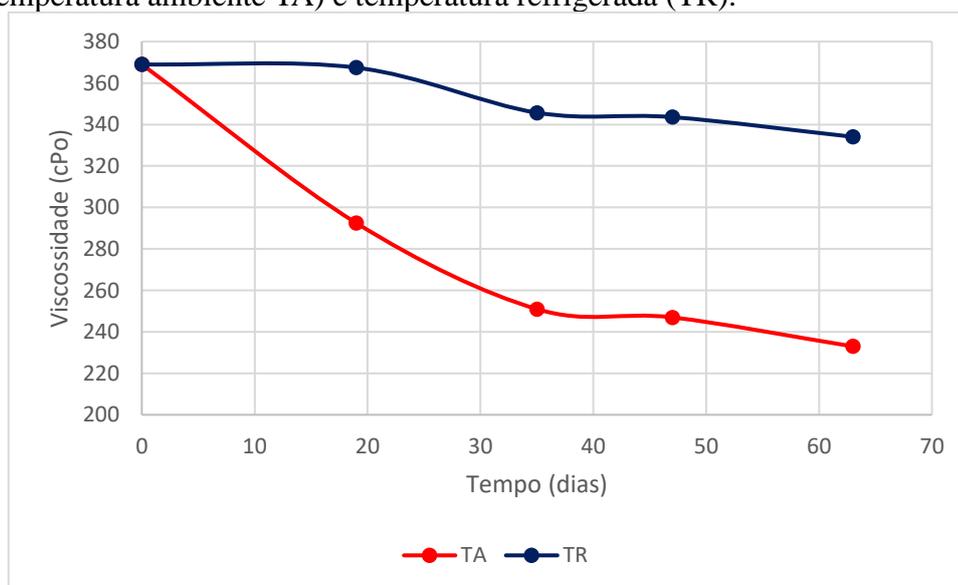
Fonte: próprio autor

5.9.3 Ensaios de comportamento reológico

Todas as formulações apresentaram redispersão satisfatória à agitação e nenhum indício físico de degradação foi verificada assim como não houve produção de gases ao ser avaliada com um papel filme ao vedar a proveta no período de 14 dias. Em todas as análises microscópicas das formulações foi verificada a presença de formas cristalinas cilíndricas distribuídas em grandes quantidades.

O comportamento reológico da suspensão apresentou queda acentuada em temperatura ambiente e em menor proporção em temperatura refrigerada (Figura 20), demonstrando o seu comportamento pseudoplástico (Figura 14).

Figura 20 – Evolução da viscosidade da suspensão de micofenolato de mofetila ao longo dos dias em temperatura ambiente (TA) e temperatura refrigerada (TR).



Fonte: próprio autor

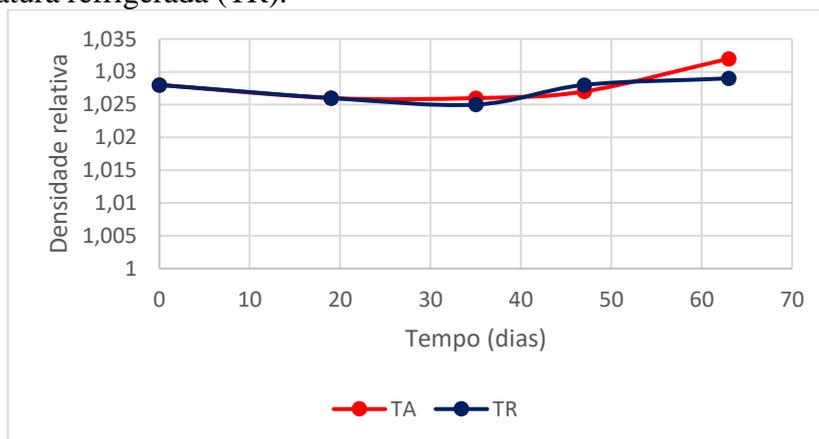
5.9.4 Ensaios de densidade e macroscopia

Os resultados de densidade (Figura 21) referentes às formulações foram constantes tanto em temperatura ambiente com média igual a 1,0273 ($\pm 0,0021$), assim

como as amostras de geladeira com média igual 1,0272 ($\pm 0,0016$), demonstrando uma constância presente no parâmetro nas suspensões em ambos locais de armazenamento.

Durante a avaliação macroscópica não ocorreu formação de grumos ao longo dos dias analisados, assim como nenhuma alteração relacionada ao aspecto da suspensão foi evidenciado.

Figura 21 – Resultados da análise da densidade ao longo dos dias em temperatura ambiente (TA) e temperatura refrigerada (TR).



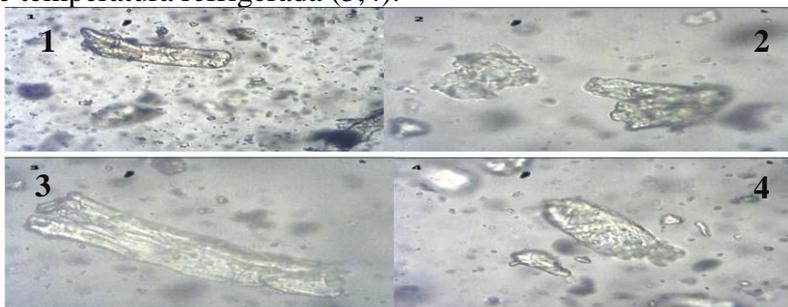
Fonte: próprio autor

5.9.5 Ensaios de microscopia óptica

O estudo por microscopia demonstrou em todas as amostras no decorrer do tempo, a presença dos cristais de MMF dispersos na suspensão, demonstrando eficiência do processo do método de preparo.

É essencial garantir uma divisão equiparada dos cristais para garantir uma uniformidade de dose, sendo este ensaio uma forma de garantir que a presença desses cristais esteve em conformidade ao analisado em 5.1, mesmo em armazenamentos distintos.

Figura 22 – Microscopia com cristais de MMF em suspensões armazenadas em temperatura ambiente (1,2) e temperatura refrigerada (3,4).



Fonte: acervo pessoal

5.9.6 Estudo de cinética de degradação e determinação do prazo de validade

As análises realizadas de viscosidade e de teor serviram como base para avaliação da cinética de degradação, dado esse que mensurado a partir da equação de

Arrhenius servirá para indicar o prazo de validade da suspensão, baseados nesses dois fatores.

Baseado nos resultados obtidos, as análises pertinentes inferem que corresponde com uma correlação melhor como cinética de ordem dois, ou seja, os dados são colocados de forma inversa da concentração em relação ao tempo (Tabela 11). O MMF possui uma velocidade de degradação igual a 0,3726 em ordem zero ($r^2=0,9879$) em relação ao teor em temperatura ambiente, indicando um prazo de validade de aproximadamente 26 dias, outro dado que obteve ótima correlação foi avaliando a viscosidade (Tabela 12) também pela ordem dois em temperatura ambiente, com o fármaco em velocidade de degradação igual a ($r^2=0,9464$) também com um resultado aproximado de 14 dias.

Tabela 11 – Velocidades de degradação para o micofenolato de mofetila a partir das análises de doseamento das suspensões armazenadas em temperatura ambiente (TA) e temperatura refrigerada (TR) com as ordens de reações e prazos de validade.

TA			
	Ordem zero	Ordem um	Ordem dois
Velocidade de degradação	0,3726	0,0043	0,0000513
R²	0,9879	0,9822	0,9738
Prazo de validade (dias)	26,10	24,17	22,29
TR			
	Ordem zero	Ordem um	Ordem dois
Velocidade de degradação	0,1586	0,0017	0,0000189
R²	0,8122	0,8187	0,8247
Prazo de validade (dias)	61,29	60,90	60,50

As amostras em temperatura refrigerada obtiveram prazos de validade maiores, porém com correlações baixas quando analisados os teores. Mas trazendo a relevância dos outros ensaios de estabilidade, pode-se entender que o prazo de validade possa ser estipulado entre 22 e 26 dias armazenado em temperatura ambiente.

Quando se refere a temperatura refrigerada, levando em conta as análises com o teor, essa variação aumenta em número de dias para 60 a 61 dias podendo ser armazenado nessa faixa de temperatura.

Tabela 12 - Velocidades de degradação para o micofenolato de mofetila a partir das análises de viscosidade das suspensões armazenadas em temperatura ambiente (TA) e temperatura refrigerada (TR) com as ordens de reações e prazos de validade

TA			
	Ordem zero	Ordem um	Ordem dois
Velocidade de degradação	1,7858	0,0063	0,00002
R²	0,881	0,9177	0,9464
Prazo de validade (dias)	151,72	16,46	14,5
TR			
	Ordem zero	Ordem um	Ordem dois
Velocidade de degradação	0,5489	0,0016	0,000004
R²	0,9806	0,9825	0,9839
Prazo de validade (dias)	67,04	65,85	67,5

5.10 Comparação experimental da administração em sonda nasoenteral e nasogástrica

A tabela 13 demonstra os ensaios realizados na CLAE para avaliar as diferenças em relação a administração por SNE (sonda nasoenteral) e SNG (sonda nasogástrica), realizadas com três injeções após alíquotas preparadas da suspensão de uso pra administração e avaliando o que foi retido após passagem por SNE e SNG.

Com os resultados obtidos (Tabela 13) infere-se a possibilidade da administração pela suspensão com as duas técnicas, porém preferencialmente por sonda nasoenteral. O material presente na sonda, pode favorecer a perda do fármaco e isso comprometer a terapia. Com o resultado permanecendo maior que 90% é possível manter a dose terapêutica adequada ao paciente utilizada por sonda, com a administração da suspensão desenvolvida.

Tabela 13 – Valores obtidos do experimento de comparação experimental da administração da suspensão desenvolvida pela SNE e SNG.

Injeções	SUSPENSÃO			SNE			SNG		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Áreas	997	1027	990	963	970	953	897	906	939
Média	1004,67			962			914		
DP	19,7			8,5			22,1		
Concentração absoluta	100 ± 1,96 µg/mL*			95,75 ± 0,85 µg/mL			90,98 ± 2,20 µg/mL		
Teor (%)	100 ± 1,96 %			95,75 ± 0,85 %			90,98 ± 2,20 %		

Legenda: (*) representativo da concentração controle da amostra retirada para teste; SNE: sonda nasoenteral; SNG: sonda nasogástrica

6. DISCUSSÃO

As propriedades de cristalização de substâncias por solventes são amplamente discutidas na literatura, esse processo é observado devido a capacidade da interação entre soluto e solvente, que influencia esse processo de cristalização (GU, et al, 2004). O processo de diluição do fármaco em solvente e evaporação servem para diminuir as impurezas, somadas a realização de filtração a vácuo, faz então com que se tenha menor quantidade de impurezas possíveis, obtendo então como resultado um pó branco e em formato de cristais que está corroborando com a descrição na Farmacopeia Brasileira (2019).

Evidenciando a necessidade de identificação e doseamento dos cristais obtidos dos comprimidos, foram então adotadas as medidas para avaliar esse material, portanto foram estudadas as fases móveis pertinentes para serem utilizadas, bem como a adequação realizada pela troca da coluna C8 (BRASIL, 2019) por C18, disponível no laboratório. Após as evidências constadas de que utilizando a fase móvel à base de metanol e água estaria mais adequada para realizar os ensaios de acordo com os parâmetros de qualidade do método. As diferenças de tempo de retenção verificadas entre as corridas, representadas na Figura 3 está relacionada, principalmente, a relação química entre a quantidade de hidrocarbonetos presentes na coluna e suas interações químicas com os componentes da solução injetada e a fase móvel escolhida (SILVA, 2004).

As mudanças no cromatograma entre as fases móveis empregadas, demonstradas na figura 3 se devem possivelmente as mudanças de pH estabelecidas, em vista que o aumento da concentração hidrogeniônica favorece a diminuição do tempo de retenção de MMF. Em comparativo ao cromatograma desenvolvido em um estudo (COSTA, 2009) em que ele prepara uma solução placebo e uma solução padrão para comparar análises de identificação do MMF e é possível avaliar que há o aparecimento apenas do pico ao utilizar a solução padrão. Na figura 3B em comparativo com o cromatograma em 4A é possível avaliar que os tempos de retenção para o cromatograma foram similares, assim como outros ACQ, demonstrando a constatação da identificação e doseamento do princípio ativo a partir do pó obtido em comprimidos e também a partir do SQR.

Nos picos obtidos das soluções do pó obtido e do MMF-SQR não houve aparecimento de impurezas relevantes que formassem picos com áreas maiores, o que indica boa resolução e menos interferentes na utilização dessas soluções, identificando assim que

podem ser utilizados como comparativo para as amostras das suspensões nos ensaios de doseamento.

Com a fase móvel escolhida, os parâmetros críticos do processo foram avaliados. A precisão e exatidão do método se demonstraram com número bastante confiáveis ao método, demonstrando exatidão igual a 100,3% e desvio padrão relativo (DPR) igual a 0,099%. Em um ensaio desenvolvido por COSTA (2009) verificou-se comparando a exatidão em concentrações de 70%, 100% e 130% da estudada, obteve-se média de exatidão igual a 99,72% e DPR igual a 0,87, demonstrando assim o rigor dos parâmetros quando voltados ao nosso estudo, assim como a precisão em 3 dias distintos avaliados, apresentou DPR menor que 1%.

A linearidade do método no estudo obteve resultado de coeficiente de determinação igual a 0,9985. Em um estudo utilizando o ácido micofenólico desenvolvido por ROMANO (2019) obteve coeficiente de determinação maior que 0,98, enquanto COSTA (2009) obteve 0,9999 para solução utilizando MMF na faixa de 22,14 a 88,58 $\mu\text{g/ml}$. Esse resultado, portanto, está próximo de 1 e aumenta a significância do método empregado.

O teste de seletividade conseguiu ter boas resoluções e identificações perante aos cromatogramas, empregando essa fase móvel. O limite de detecção com a solução do pó obtido foi de 9,18 $\mu\text{g/ml}$, enquanto ROMANO (2019) obteve 0,097 $\mu\text{g/ml}$ e COSTA (2009) obteve 0,58 $\mu\text{g/ml}$. No que se refere ao limite de quantificação, o ensaio obteve 27,83 $\mu\text{g/ml}$, ROMANO (2019) obteve 0,203 $\mu\text{g/ml}$ e COSTA (2009) obteve 1,77 $\mu\text{g/ml}$. Essas diferenças podem ser justificadas pelas alterações relacionadas a coluna, fase móvel, assim como faixas de concentrações empregadas, além de estarem associadas a solução utilizada, assim como variações cromatográficas do equipamento pelo seu uso e consequente diminuição de sensibilidade. Um exemplo, ROMANO (2019) utiliza solução com o próprio ácido micofenólico e não com o pró-fármaco.

O estudo de avaliação da influência do pH e de eletrólitos no veículo foi realizado para verificar seu comportamento com esses interferentes, demonstrando que quanto maior a concentração de eletrólitos, haveria uma diminuição da viscosidade. Esses resultados indicam relevância apenas sobre a qualidade da água empregada na preparação da suspensão, já que no presente estudo foi utilizada água destilada e os possíveis agentes que modificariam a salinidade e pH viriam do medicamento. Os excipientes de uma formulação podem garantir melhor estabilidade física e química e à partir da sua interação com o princípio ativo, podem aumentar sua estabilidade química e até mesmo a biodisponibilidade. A formulação traz excipientes considerados seguros e de poucas interações e interferentes na formulação, de acordo com

resultados obtidos, garantindo assim a possibilidade de seu uso nesta formulação (REN, 2008).

O veículo GUTE é uma formulação desenvolvida no Laboratório de Farmacotécnica da Universidade Federal do Ceará para facilitar manipulação a um custo acessível sendo destinada a crianças, porém viabilizando a utilização de formas farmacêuticas sólidas como formulações extemporâneas líquidas para aquelas que não possuam fabricação ou validação pelos órgãos sanitários no Brasil. Com isso, sua utilização na administração em pacientes sondados se torna viável tendo em vista sua formulação simples, segura e composta por: goma xantana, anitolm, parabenos, sucralose, e água purificada (BATISTA, 2014; FONSECA, 2015).

A escolha dos excipientes para essa formulação considerou diversos critérios farmacotécnicos como a escolha de edulcorante não cariogênico e distúrbios relacionados à glicemia (MEDEIROS, 2014). Assim como a não utilização de edulcorantes álcoois polihídricos que estão relacionados com diversos distúrbios gastrointestinais, como diarreia, cólica, distensão abdominal e vômito, ao serem utilizados em sondas, principalmente associados à utilização de sorbitol (WILLIAMS, 2008). Com as formulações preparadas a constatação da presença dos cristais de micofenolato de mofetila foi realizada pela verificação de cada amostra por microscopia.

O pH da formulação não teve grandes variações se apresentando entre 5,5 a 6, tanto as amostras em temperatura ambiente quanto as amostras refrigeradas, o que aparenta ser ideal tendo em vista que em pH muito básico se demonstrou que o micofenolato é convertido quase que em sua totalidade em ácido micofenólico. E inclusive em casos de administração por sondas, é recomendável trocar o micofenolato sódico pelo micofenolato de mofetila por conta do revestimento entérico presente no primeiro, por conta de risco de obstrução (WANDENBERGUE, 2014). Esse resultado também ressalta de forma indireta a não existência de contaminação da formulação, pois na presença de microorganismos é muito comum que ocorra a mudança de pH.

Outros parâmetros avaliados como a densidade permaneceram estáveis durante todo o processo de avaliação e acréscidos da não formação de gases sugerem boa resistência ao desenvolvimento de microorganismos fermentadores, assim como mais de 24 horas para ter precipitação e uma fácil redispersão, indicando uma probabilidade mínima em relação a resquícios de precipitados na sonda, pois essa possibilidade pode resultar em processos de aglutinação e ocasionar obstrução (HOSSAINI, 2019).

Diversos são os tipos de fluídos e seu comportamento reológico (Figura 14), sua identificação é necessária para obter informações em relação da sua estabilidade e condições físico-químicas relacionadas. Na avaliação de viscosidade o veículo com a presença de micofenolato de mofetila apresentou uma formação de fluído pseudoplástico, característica de outras formulações com GUTE, em que ocorre uma diminuição da viscosidade com o aumento da força de cisalhamento (velocidade em RPM). Assim, com a formulação em repouso, sua viscosidade é alta com uma diminuição da velocidade de sedimentação das partículas, conferindo estabilidade física a formulação, mas com força de movimento aplicada se torna menos viscosa. Outra vantagem dessa formulação é de não ser à base de xarope, se torna mais viável a realização da administração pela sonda, por ser um líquido menos viscoso e também por não ter na sua formulação excipientes que ocasionem distúrbios gastrointestinais com mais frequência (WILLIAMS, 2008).

Nas análises de doseamento com a suspensão foram verificados picos sobrepostos, conforme demonstrado na Figura 18, por isso necessitando de testes de adequação, para verificar que o sistema cromatográfico está adequado para análise (BESERRA, 2016). A metodologia empregada na Farmacopeia Brasileira necessitou ser adaptada, pois os picos sobrepostos poderiam interferir no resultado de doseamento, além da troca de fase móvel promover um pico mais simétrico e com menor tempo de retenção, condicionando um melhor tempo de análise.

Com o doseamento verificamos que a queda referente ao teor de 23,91% ocorreu durante o período armazenado em TA, já em TR a queda até a última análise foi de apenas 10,78%. A maioria das reações ocorrem de forma mais acelerada em temperaturas mais elevadas (YOSHIOKA E STELLA, 2002), a cada 10°C de aumento de temperatura, a velocidade de uma reação pode ser duplicada (LACHMAN, et al, 2001) , porém é essencial conhecer a cinética de degradação de cada substância e cada formulação, perante os fatores expostos (SANTOS, 2012).

A cinética de degradação em relação aos resultados de teor e viscosidade obtiveram melhores correlações para o teste em temperatura ambiente com resultados iguais a 0,956 e 0,9464, respectivamente, em cinética de ordem dois, indicando um prazo de validade em temperatura ambiente em torno de 14,5 dias, tornando possível sua utilização hospitalar. Em vista da necessidade hospitalar para atender os pacientes, essa quantidade de tempo se faz satisfatória, pois garante uma quantidade de tempo adequada para não precisar realizar manipulações constantes.

Com a análise de administração em sondas, verificou-se que na sonda nasoenteral obteve-se maior quantidade do teor do princípio ativo, assim como uma melhor fluidez durante o percurso até o balão volumétrico, diferente da sonda nasogástrica, que apresentou menor fluidez e ficaram perceptíveis resquícios da formulação a olho nu. Esse resultado ressalta que é indicativa a utilização da sonda nasoenteral para administração da formulação assim como ocorre comumente na prática clínica, com um material de poliuretano ou de silicone se tornam mais flexíveis, maléaveis e biocompatíveis. A sonda nasogástrica geralmente é mais utilizada para lavagem gástrica em situações de preparação para exames do aparelho digestivo ou cirurgias, estancamento de hemorragias, assim como para dieta nutricional (WAITZBERG,2017).

Porém pelo resultado obtido da administração de ambas as amostras, avalia-se que os dois tipos de sondas poderiam ter a administração do medicamento. No caso da suspensão Cellcept® comercializada no mercado americano, a mesma indica a utilização via sonda nasogástrica (FDA, 2017).

Venkataraman *et al.* (1998) em um estudo de uma suspensão de concentração igual a 50 mg/mL analisando a estabilidade por HPLC, obtendo pH final igual a 6,1, não ocorrendo mudança na coloração e sem culturas microbianas positivas e que a 5°C se apresentou estável por 121 dias.

Em um estudo de Swenson *et al* (1999) realizou uma formulação também de 100 mg/mL apresentando estabilidade em 23 a 25°C por 120 dias, porém o flavorizante utilizado ficou estável apenas 28 dias. Fahimi (2012) realizou a avaliação de uma formulação a ser preparada no ambiente hospitalar concluiu que uma preparação com o pó presente nas cápsulas do medicamento pode ser utilizada por 14 dias a 5°C.

Esses estudos realizaram em sua formulação a adição com o xarope simples e não relatam testes relacionados a utilização em sondas, dessa forma, a formulação desenvolvida nesse estudo se torna uma opção crucial para a utilização por sondas e também para utilização na pediatria. Apresentando uma estabilidade de em torno de 20 a 26 dias em temperatura ambiente e de 60 a 61 dias armazenada entre 2 e 8°C.

Com esse estudo, espera-se contribuir para implementações de formulações extemporâneas e transformação de especialidade farmacêutica para que em situações de falta de apresentações que garantam a terapia ao paciente, metodologias como essas sejam aplicáveis de forma eficaz e seguras para se obter a continuidade de tratamentos, objetivando sempre a

melhora da qualidade de vida, como é o caso de pacientes transplantados, que necessitam continuamente de medicamentos imunossupressores.

Os profissionais de forma multidisciplinar devem chegar a um consenso da melhor utilização viável para cada paciente baseado na condição clínica, necessidade, efetividade e segurança de cada situação e buscando sempre diminuir riscos e problemas relacionados a terapia dos pacientes.

7. CONCLUSÃO

Os achados demonstram que foi possível realizar a dispersão do micofenolato de mofetila no veículo proposto, originando uma suspensão que apresenta uma estabilidade com prazo de validade viável para utilização, em vista da necessidade dessa formulação em uma unidade hospitalar. Apesar de variações das condições, os fatores físico-químicos estiveram de acordo com o preconizado com a farmacopeia brasileira e nas recomendações das legislações.

Apesar das necessidades de adequação dos equipamentos, sendo necessário a adequabilidade do processo analítico, os ensaios de parâmetros de qualidade indicam que a metodologia aplicada foi eficaz para mensurar o acompanhamento proposto e estipular a cinética de degradação da formulação, com os ensaios realizados em CLAE.

Com a concentração baixa da formulação realizada, os parâmetros foram aceitáveis para sua realização, porém é necessários novos ensaios com concentrações maiores, além de estudos utilizando diferentes tipos de sondas, inclusive em relação aos diâmetros e modelos, para evidenciar as diferenças para cada tipo de administração, de acordo com os resultados das sondas utilizadas no estudo.

Foi possível inferir que o prazo de validade encontrado está recomendado para 20 dias em armazenamento em temperatura ambiente e 60 dias para armazenamento sob refrigeração, portanto um tempo de utilização eficiente para as unidades hospitalares utilizarem e iniciar seu emprego clínico. Em comparação com outros estudos, apresentou vantagens quanto a formulação e também excipientes seguros e eficazes para administração principalmente pela via nasoenteral, promovendo redução de custos, por ser uma administração mais barata, eficaz e adequando para pacientes sondados e que não possam deglutir por condições clínicas, além do público geral.

Dessa forma, se faz necessário avaliar o emprego clínico da formulação para que em comparação com a via oral, verificar possíveis mudanças farmacocinéticas intrínsecas a estudos envolvidos com mudanças de formas farmacêuticas.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE TRANSPLANTE DE ÓRGÃOS, A. **INFORMATIVO DA ABTO**. Disponível em: <<https://site.abto.org.br/wp-content/uploads/2022/08/ABTO-News-Vol.25-2022-Final-site.pdf>>. Junho, 2022. Acesso em: jul, 2022.

BANKHEAD, R. et al. Enteral Nutrition Practice Recommendations. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 33, n. 2, p. 122 – 167, 2009

BARBOSA, Juliana Tavares et al. Transplante renal: mecanismo de rejeição, terapia imunossupressora e métodos diagnósticos. **Saúde e Desenvolvimento**, v. 9, n. 17, 2020.

BARBOSA, R. (2012). **Desenvolvimento de preparação extemporânea para uso em pacientes infantis em instituições hospitalares do estado do Ceará**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará.

BATISTA, L. **Monitorização do uso clínico de formulação extemporânea de captopril com o veículo “GUTE.”** [Fortaleza]: Universidade Federal do Ceara; 2014.

BESERRA, Milena Portela *et al.* **MÉTODO DE ADMINISTRAÇÃO DE MEDICAMENTOS POR SONDA DE ALIMENTAÇÃO: DESENVOLVIMENTO, VALIDAÇÃO E ANÁLISE DA SEGURANÇA E EFETIVIDADE**. 2016. 126 p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Ceará, [S. l.], 2016.

BOURDENET, G.; GIRAUD, S.; ARTUR, M.; DUTERTRE, S.; DUFOUR, M.; LEFÈBVRE-CAUSSIN, M.; PROUX, A.; PHILIPPE, S.; CAPET, C.; FONTAINEADAM, M.; KADRI, K.; LANDRIN, I.; GRÉBOVAL, E.; TOUFLET, M.; NANFACK, J.; THARASSE, C.; VARIN, R.; RÉMY, E.; DAOUPHARS, M.; DOUCET, J. Impact of recommendations on crushing medications in geriatrics: from prescription to administration. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 29, n. 3, p. 316–320, 2015. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/fcp.12116>> . Acesso em: 25 de jan de 2022.

BRADLEY, John Andrew; HAMILTON, David. Organ Transplantation: An Historical Perspective. In: HAKIM, Nadel; DANOVITCH, Gabriel (org.). **Transplantation Surgery**. London: Springer, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. Departamento de Sistemas e Redes Assistenciais. **Protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas, medicamentos excepcionais**. Brasília, DF, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.577 de 27 de outubro de 2006. Aprova o **Componente de Medicamentos de Dispensação Excepcional**. Diário Oficial da União, Poder Executivo, 10 de novembro de 2006, Brasília, D.F.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 166**, de 24 de julho de 2017, dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências.

BRASIL. Ministério da Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes para Imunossupressão no Transplante Hepático em Pediatria. 1ª edição, 2020, Brasília-DF: **CONITEC**. Disponível em: https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/protocolos/publicacoes_ms/pcdt_imunossupresso-no-

transplante-heptico-em-pediatria_-isbn.pdf. Acesso em: 10 de janeiro de 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Farmacopeia Brasileira**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2019;6ª edição:1132–43.

BRASIL, Micofenolato de mofetila e micofenolato de sódio para nefrite lúpica, Brasília: **CONITEC**, 2018. Disponível em: http://antigo-conitec.saude.gov.br/images/Relatorios/2022/20220520_Relatorio_358_Micofenolato_Nefrite_Lupica_final.pdf

BRASIL, Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas de Imunossupressão no Transplante Hepático em Adultos, Brasília-DF: **CONITEC**, 2016.

CAUSSIN, M.; MOURIER, W.; PHILIPPE, S.; CAPET, C.; ADAM, M.; REYNERO, N.; JOUINI, C.; COLOMBIER, a. S.; KADRI, K.; LANDRIN, I.; GRÉBOVAL, E.; RÉMY, E.; MARC, F.; TOUFLET, M.; WIROTIUS, F.; DELABRE, N.; LE HIRESS, C.; RORTEAU, V.; VIMARD, M.; DUFOUR, M.; THARASSE, C.; DIEU, B.; VARIN, R.; DOUCET, J. L'écrasement des médicaments en gériatrie : Une pratique « artisanale » avec de fréquentes erreurs qui nécessitait des recommandations. **Revue de Medecine Interne**, v. 33, n. 10, p. 546–551, 2012. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0248866312005309>>. Acesso em: 20 jan 2022.

COSTA, A.L.O. **ÉSTER 2-MORFOLINOETIL E SAL SÓDICO DO ÁCIDO MICOFEFÊNOLICO: DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA O CONTROLE DE QUALIDADE DE MATÉRIA-PRIMA E COMPRIMIDOS**. Dissertação apresentada para Universidade Federal de Minas Gerais. 219f. Belo Horizonte, 2009. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/FARD-82TLBV/1/disserta__o_andr_.pdf. Acesso em: 12 de março de 2022.

DASHTI-KHAVIDAKI, S.; BADRI, S.; EFTEKHARZADEH, S.-Z.; KESHTKAR, A.; KHALILI, H. The role of clinical pharmacist to improve medication administration through enteral feeding tubes by nurses. **International Journal of Clinical Pharmacy**, v. 34, n. 5, p. 757–764, 2012.

DA SILVA, Alan Rodrigues et al. Percepção dos pacientes transplantados renais sobre a farmacoterapia imunossupressora: perspectivas e dificuldades. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, n. 53, p. e3768-e3768, 2020

EUGUI, E.M.; ALMQUIST, S.J.; MULLER, C.D. et al. Lymphocyte-selective cytostatic and immunosuppressive effects of mycophenolic acid in vitro: role of deoxyguanosine nucleotide depletion. **Scand. J. Immunol.**, v.33, p.161-173, 1991.

FAHIMI F, BANIASADI S, MORTAZAVI A, DEGHAN H, ZARGHI A. Physical and Chemical Stability of Mycophenolate Mofetil (MMF) Suspension Prepared at the Hospital. Vol. 11, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences and Health Services. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**. 2012.

FIGUEIREDO, P.P. Elaboração de instrumento para conhecer o preparo e administração de medicamentos via sonda pela equipe de enfermagem. **J. res.: fundam. care**. Online, 2018.

abr./jun. 10(2): 299-309.

FONSECA, S.G.C. **Desenvolvimento de formulações pediátricas contendo tuberculostáticos**. Tese (Doutorado em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Rio Grande do Norte, 164 f, 2015.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA) U.S. **Draft Guidance on Mycophenolate Mofetil**. Recommended Jun 2010; Revised Feb 2014, Oct 2017. Disponível em: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/psg/Mycophenolate%20mofetil_%20oral%20suspension_NDA%2050759_RV08-17.pdf

U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). **Validation of Chromatographic Methods. Reviewer Guidance**. 1994. 30 p.

FRANKLIN, T.J.; COOK, J.M. The inhibition of nucleic acid synthesis by mycophenolic acid. **Biochem. J.**, v.113, p.515-524, 1969.

GARCIA, Clotilde Druck et al. Manual de Doação e Transplantes. Rio de Janeiro: **Elsevier**. 2013.

GOODMAN, L. S.; GILMAN, A.; BRUNTON, L.L. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 11.ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2006. p. 1265-128

GORZONI, M. L.; DELLA TORRE, A.; PIRES, S. L. Medicamentos e sondas de nutrição. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 1, p. 17 – 21, 2010

GU, C-H.; LI, H.; GANDHI, R. B.; RAGHAVAN, K. Grouping solvents by statistical analysis of solvent property parameters: implication to polymorph screening. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 283, p. 117-125, 2004.

HOSSAINI ALHASHEMI S, GHORBANI R, VAZIN A. Improving knowledge, attitudes, and practice of nurses in medication administration through enteral feeding tubes by clinical pharmacists: a case-control study. **Advances in Medical Education and Practice**. 2019 Jul;Volume 10:493–500

ICH. **Harmonised Tripartite Guideline: Stability Testing of New Drug Substances and Products Q1A(R2)**. ICH Steering Committee, Suíça, 2003.

ICH. **Harmonised Tripartite Guideline: Validation of Analytical Procedures: Methodology**. ICH Steering Committee, Suíça, 2005.

ICH. **Harmonised Tripartite Guideline: Pharmaceutical Quality System Q10**. ICH Steering Committee, Suíça, 2008.

IOANNIDOU, E., & MAKRIS, G. P. Twelve-year follow-up of an autogenous mandibular canine transplant, 2003, p. 582–590.

LACHMAN, L., DELUCA, P., AKERS, M.J. (2001). Testes de estabilidade e fundamentos de

cinética química. In: Lachman, L., Lieberman, H.A., Kanig, J.L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, pp. 1277-1355.

LEE, S. V. et al. Perceived Usability of Tablet Crushers: Comparison of Devices by People with and without Limited Hand Functions. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 2, p. 517, 3 fev. 2023.

KEHR, S.J et al. Contaminación microbiana de fórmulas enterales de uso. **Revista Chilena de Pediatría**, 2002, v.73, p.248-256

MACHADO, A. M. L. et al. Estudo comparativo entre os parâmetros reológicos de tintas acrílicas arquitetônicas. **Ambiente Construído**, v. 22, p. 223 – 240, 1 nov. 2021.

MAGNUSON, B. L. et al. Enteral nutrition and drug administration, interactions, and complications. **Nutrition in clinical practice**, v. 20, n. 6, p. 618–624, 2005

MARANHO, RF. **Desenvolvimento de um método indicativo de estabilidade para ondansetrona**. Dissertação (Mestrado em Ciências). Instituto de Química da Universidade de São Paulo. São Paulo, 165 f, 2017.

MATSUBA, C,S,T. **Obstrução de sondas nasoenterais em pacientes cardiopatas** [dissertação]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 2003.

MEDEIROS, M. **Avaliação sensorial de formulações extemporâneas de medicamentos cardiovasculares preparados com o veículo “GUTE” e utilizadas em pacientes pediátricos**. [Fortaleza]: Universidade Federal do Ceará; 2014.

MIES, Sergio. Transplante de Fígado. **Revista da Associação Médica Brasileira**, [s.l.], v. 44, n. 2, p. 127-134, 1998

MORDANT, Pierre. La transplantation d’organe – Petite histoire d’une grande aventure. **Info Respiration**, [s.l.], n. 82, p. 27-31, 2007.

MOREIRA, Moara Avila de Jesus et al . USO DE MEDICAMENTOS COM AÇÃO ANTI-INFECCIOSA VIA SONDA GASTROENTERAL: RECOMENDAÇÕES PARA A ENFERMAGEM. **Cogitare enferm.**, Curitiba, v. 23, n. 4, e55166, 2018. Disponível em <http://www.revenf.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1414-85362018000400306&lng=pt&nrm=iso>. acessos em 01 fev. 2022

MORIEL, P.; SHOJI, P.; BORTOLETTO, T.C.; MAZZOLA, P.G. Uso off label de medicamentos através de sondas: divergência entre informações. **Revista Brasileira de Farmácia Hospitalar e Serviços de Saúde**, São Paulo, v. 3, n. 2, p.20-24, 2012.

MURRAY, J. E. (2005). The first successful organ transplants in man. **Journal of the American College of Surgeons**, 200(1), 5 – 9.

O'NEIL, Maryadele J. The Merck Index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 14 ed. **Whitehouse Station**, NJ: Merck, 2006, p. 1094

OHSUGI Y, SUZUKI S, TAKAGAKI Y. Antitumor and immunosuppressive effects of

mycophenolic acid derivatives. **Cancer Res.** 1976;36(8):2923-7.

POLTRONIERI, Nadja Van Geen et al. Não adesão medicamentosa nos pacientes transplantados cardíacos. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 54, 2020

REN, S., PARK, M.J., SAH, H., LEE, B.J.(2008) **Int. J. Pharm.** 350:197 – 204.

ROCHA, Dagoberto et al. Avaliação da adesão à terapia imunossupressora por autorrelato de pacientes submetidos ao transplante renal. **Scientia Medica** (PUCRS. Impresso), 2017

ROITT, I. M. D. (2003). *Imunologia*, Sexta Edição. Ed.Manole, 6 a Edição, pp 488.

ROMANO, P. **Farmacocinética do ácido micofenólico em transplantados renais idosos**. Tese (Doutorado em Ciências). Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, 98 f, 2019.

SADE, R. M. Transplantation at 100 years: Alexis Carrel, pioneer surgeon. **The Annals of Thoracic Surgery**, 2005, 80(6), 2415–8.

SALMON, D.; PONT, E.; CHEVALLARD, H.; DIOUF, E.; TALL, M. L.; PIVOT, C.; PIROT, F. Pharmaceutical and safety considerations of tablet crushing in patients undergoing enteral intubation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 443, n. 1-2, p. 146 – 153, 2013.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378517313000021?via%3Dihub>

SANTOS, VLP. **Estabilidade e tempo de vida útil de fármacos e medicamentos**. [dissertação] 83 f. Porto, 2012.

SHIPKOVA M, ARMSTRONG VW, OELLERICH M, et.al. Acyl glucuronide drug metabolites: toxicological and analytical implications. **Ther Drug Monit.** 2003;25(1):1-16.

SILVA, C. R.; JARDIM, I. C. S. F.; COLLINS, C. H.; AIROLDI, C. Novas fases estacionárias à base de sílica para cromatografia líquida de alta eficiência. **Quim. Nova**, v. 37, n. 2, p. 270-276, 2004.

SILVA, MICHELLE LIZIERE DA T. **DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA POR CROMATOLOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE) PARA PESQUISA DE ENROFLOXACINA E CIPROFLOXACINA EM DEJETOS DE POEDEIRAS**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Federal de Minas Gerais. Minas Gerais, 73 f, 2019.

SILVA, Paulo Rodrigues da. Transplante cardíaco e cardiopulmonar: 100 anos de história e 40 de existência. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, [s.l.], v. 23, n. 1, p. 145-152, 2008.

SILVA R, PORTELA R, DA COSTA I, DE OLIVEIRA,A, WOODS D, DE OLIVEIRA C. Immunosuppressives and enteral feeding tubes: An integrative review. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**. 2020 Jun 19;45(3):408–18.

SOARES BARBOSA, A. P.; DE PAULA, S. L.; SOARES BARBOSA, D.; DA CUNHA, D. F. Oral drug administration by enteral tube in adults at a tertiary teaching hospital. **e-SPEN Journal**, v. 7, n. 6, p. e241–e244, 2012. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2212826312000462?via%3Dihub>>.

Acesso em: 21 jan 2022.

SOUSA, E. JOSINO, M. SOUSA A. CRUZ, S. Desenvolvimento de uma forma farmacêutica líquida de cloridrato de valganciclovir e seu estudo de estabilidade. **Informative Geum Bulletin**. 2014 Apr 1;5:27–34.

SOUSA, E. JOSINO, M. CRUZ, S. Desenvolvimento de suspensão oral contendo hidroclorotiazida para uso em pediatria. **Informative Geum Bulletin**. 2014 Apr 1;5(2237–7387):12–5.

STEFONI, Sergio et al. The History of Clinical Renal Transplant. **J Nephrol**, [s.l.], v. 17, p. 475-478, 2004.

SWENSON CF, DENTINGER PJ, ANAIZI NH. Stability of mycophenolate mofetil in an extemporaneously compounded sugar-free oral liquid. **American Journal of Health-System Pharmacy**. 1999 Nov 1;56(21):2224–6.

TEIXEIRA, K. C. **Análise do programa de medicamentos de dispensação em caráter excepcional em Minas Gerais: gastos, principais diagnósticos e evolução de novos pacientes**. 2007. 72 p. Monografia (Especialização de Economia da Saúde) - Escola de Governo Professor Paulo Neves de Carvalho, Fundação João Pinheiro, Belo Horizonte, 2007.

UNAMUNO, M.R.D.L.; MARCHINI, J.S. Sonda nasogástrica/ nasoentérica: cuidados na instalação, na administração da dieta e prevenção de complicações. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 2002, 35 (2): p.95-101.

VENKATARAMANAN R, MCCOMBS JR, ZUCKERMAN S, MCGHEE B, PISUPATI J, DICE JE. Stability of Mycophenolate Mofetil as an Extemporaneous Suspension. **Annals of Pharmacotherapy**. 1998 Jul 26;32(7–8):755–7.

WAITZBERG DL. Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica. 5th ed. Vol. 1. **Atheneu**; 2017.

WANDEN-BERGHE C, PATINO-ALONSO MC, GALINDO-VILLARDÓN P, SANZ-VALERO J. Complications Associated with Enteral Nutrition: CAFANE Study. **Nutrients**. 2019 Sep 1;11(9):2041

WILLIAMS NT. Medication administration through enteral feeding tubes. **American Journal of Health-System Pharmacy**. 2008 Dec 15;65(24):2347–57.

YOSHIOKA, S., STELLA, V.J. (2002). **Stability of drugs and dosage forms**. New York, Kluwer **Academic Publishers**

ZHANG J, SUN Z, ZHU Z, YANG J, KANG J, FENG G. Pharmacokinetics of Mycophenolate Mofetil and Development of Limited Sampling Strategy in Early Kidney Transplant Recipients. **Frontiers in Pharmacology**. 2018.