

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE FORMULAÇÕES
ORAIS LÍQUIDAS CONTENDO BACLOFENO PARA USO HOSPITALAR**

Elisa de Saldanha Simon

Porto Alegre, 2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE FORMULAÇÕES
ORAIS LÍQUIDAS CONTENDO BACLOFENO PARA USO HOSPITALAR**

Tese apresentada por **Elisa de Saldanha Simon**
para obtenção do TÍTULO DE DOUTOR em
Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Martin Steppe

Porto Alegre, 2022

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Doutorado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 31 de março de 2022, pela Banca Examinadora constituída por:

Profa. Dra. Cássia Virginia Garcia

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Profa. Dra. Luiza Abrahão Frank

Centro Universitário Ritter dos Reis (UniRitter)

Profa. Dra. Marina Cardoso Nemitz

Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

CIP - Catalogação na Publicação

Simon, Elisa de Saldanha
Desenvolvimento e Avaliação da Estabilidade de
Formulações Oraís Líquidas contendo Baclofeno para Uso
Hospitalar / Elisa de Saldanha Simon. -- 2022.
182 f.
Orientador: Martin Steppe.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de
Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre,
BR-RS, 2022.

1. Baclofeno. 2. Formulação líquida. 3. Quality by
design. 4. Estabilidade. 5. Fármaco quirál. I. Steppe,
Martin, orient. II. Título.

Este trabalho foi realizado nas dependências do Laboratório de Controle de Qualidade Farmacêutico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Martin Steppe por me acolher, incentivar e apoiar neste período. Obrigada por sua orientação, ensinamentos, paciência e confiança em mim depositada.

À Prof.^a Dra. Nadia Maria Volpato pela oportunidade, orientação e ensinamentos durante a etapa inicial do meu doutorado.

Aos professores do LCQFar pelo auxílio e incentivo no decorrer deste trabalho. Agradeço em especial a Prof.^a Dra. Cássia Virgínia Garcia por me acolher como aluna especial neste Programa de Pós-Graduação.

Ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre e aos farmacêuticos Márcio e Sílvia pela oportunidade e parceria desenvolvida neste estudo.

Aos amigos do LCQFar, obrigada pelo acolhimento, auxílio, momentos de descontração e troca de conhecimentos e ideias.

À colega e amiga Caren Gobetti, pela parceria nos estudos, por dividir angústias e incertezas, pelos momentos de descontração e trocas.

À colega e amiga Nathalie Wingert pelos ensinamentos e auxílio na aplicação da metodologia *quality by design*.

À Grabiele Primieri pelo auxílio, dedicação e cuidado nos experimentos.

À minha família, por acreditarem no meu sonho e sempre me acolherem nos momentos de cansaço e aflição. Obrigada pelo incentivo e amor em todos os momentos.

A todos os professores e funcionários da Faculdade de Farmácia e do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, obrigada pela oportunidade em aperfeiçoar meus conhecimentos.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho, agradeço, dedico e compartilho a felicidade por ter chegado até aqui.

RESUMO

A carência de formas farmacêuticas líquidas orais adequadas para uso em pacientes pediátricos e pacientes adultos com dificuldade de deglutição, constitui um problema de saúde pública, principalmente no contexto hospitalar. O fármaco quiral baclofeno é um relaxante muscular de ação central de escolha para tratamento de espasticidade em adultos e crianças. É comercializado no Brasil apenas sob a forma de comprimidos contendo o seu racemato, o que evidencia a necessidade do desenvolvimento de formulações líquidas de uso oral para facilitar o ajuste de dose, a sua administração e deglutição. O presente trabalho teve como objetivo desenvolver formulações orais líquidas contendo a matéria-prima do fármaco baclofeno, isentas ou não de açúcar, como alternativa terapêutica para pacientes pediátricos e adultos com dificuldade de deglutição, internados em ambiente hospitalar, otimizá-las através da abordagem do *quality by design* (QbD) e avaliar sua estabilidade físico-química, microbiológica e quiral. A matéria-prima do fármaco baclofeno foi caracterizada através das técnicas de espectrofotometria na região do ultravioleta, faixa de fusão, análise térmica por calorimetria exploratória diferencial e espectrometria de massas. Para os estudos de pré-formulação doze pré-formulações contendo baclofeno (5,0 mg/mL) foram submetidas a estudos de estabilidade preliminar por 28 dias, armazenadas em temperatura ambiente, avaliando-se aspecto, cor, odor, pH, viscosidade e ressuspensão pós-agitação a cada sete dias. Com auxílio do *software* MODDE® 12.1, foram realizados desenhos experimentais de varredura e otimização que resultaram em onze experimentos para cada etapa e avaliou-se aspecto, cor, odor, pH, viscosidade e volume de sedimentação de cada pré-formulação após a manipulação e a cada sete dias, por 28 dias, armazenadas em temperatura ambiente. Um método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi desenvolvido para determinação quantitativa do baclofeno nas formulações e apresentou linearidade, limite de detecção de 0,09 µg/mL e de quantificação de 0,26 µg/mL, precisão, exatidão e robustez, além de caráter indicativo de estabilidade. Foi desenvolvida metodologia analítica por CLAE quiral para determinação quantitativa dos enantiômeros do fármaco. Nos estudos de estabilidade preliminar, as pré-formulações apresentaram variações de acordo com os limites especificados para os parâmetros avaliados. O delineamento experimental conduziu para duas formulações otimizadas, a primeira

denominada de Formulação XS contendo os excipientes glicerina, sorbato de potássio, ácido cítrico, água ultrapura, aroma e xarope simples e a segunda, a Formulação CMC, contendo glicerina, sorbato de potássio, ácido cítrico, sucralose, água ultrapura, aroma e solução de carboximetilcelulose sódica. As formulações foram acondicionadas em frascos de vidro âmbar e submetidas a estudo de estabilidade físico-química, microbiológica e quiral, sendo armazenadas em temperatura ambiente (15-30 °C), sob refrigeração (2-8 °C) e em estufa (40 °C) durante 84 dias. Ambas as formulações apresentaram estabilidade físico-química e microbiológica quando armazenadas em temperatura ambiente e sob refrigeração e estabilidade quiral nas três temperaturas avaliadas até 84 dias. Os resultados deste estudo poderão servir de referência no preparo de formulações orais líquidas contendo baclofeno na rotina hospitalar e colaborar com a segurança e adesão ao tratamento de pacientes adultos e pediátricos.

Palavras-chave: baclofeno, formulação líquida, *quality by design*, estabilidade, fármaco quiral.

ABSTRACT

The lack of oral liquid pharmaceutical forms suitable for use in pediatric patients and adult patients with difficulty in swallowing is a public health problem, especially in the hospital context. The chiral drug baclofen is a centrally acting muscle relaxant of choice for treating spasticity in adults and children. It is marketed in Brazil only in the tablets form containing its racemate, which highlights the need to develop liquid formulations for oral use to facilitate dose adjustment, administration, and swallowing. The present study aimed to develop oral liquid formulations containing the raw material of the drug baclofen, free or not of sugar, as a therapeutic alternative for pediatric patients or adults with swallowing difficulties, interned in a hospital environment, optimize them through the quality by design (QbD) approach and evaluate its physicochemical, microbiological, and chiral stability. For the preformulation studies twelve pre-formulations containing baclofen (5.0 mg/mL) were stored at room temperature and subjected to preliminary stability studies for 28 days, evaluating appearance, color, odor, pH, viscosity, and post-agitation resuspension every seven days. With the aid of the MODDE® 12.1 software, screening and optimization experimental designs were performed, which resulted in eleven experiments for each step and the appearance, color, odor, pH, viscosity, and sedimentation volume of each preformulation were evaluated after handling and every seven days, for 28 days, stored at room temperature. A stability-indicating method by high performance liquid chromatography (HPLC) was developed for quantitative determination of baclofen in the formulations and presented linearity, limit of detection of 0.09 µg/mL and quantification of 0.26 µg/mL, precision, accuracy, and robustness. An analytical methodology was developed by chiral HPLC for quantitative determination of drug enantiomers. In preliminary stability studies, the preformulations showed variations within the limits specified for the evaluated parameters. The experimental design led to two optimized formulations, the first called SS Formulation containing the excipients glycerin, potassium sorbate, citric acid, ultrapure water, aroma, and sucrose syrup and the second, the CMC Formulation, containing glycerin, potassium sorbate, citric acid, sucralose, ultrapure water, flavor, and sodium carboxymethyl cellulose solution. The formulations were placed in amber glass flasks and subjected to a physicochemical, microbiological, and chiral stability study, being stored at room temperature (15-30 °C), under

refrigeration (2-8 °C) and in an oven (40 °C) for 84 days. Both formulations showed physicochemical and microbiological stability when stored at room temperature and under refrigeration and chiral stability at the three temperatures evaluated, up to 84 days. The results of this study may serve as a reference in the preparation of liquid oral formulations containing baclofen in the hospital routine and collaborate with the safety and adherence to the treatment of adult and pediatric patients.

Keywords: baclofen, liquid formulation, quality by design, stability, chiral drug.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Publicações científicas envolvendo a abordagem <i>quality by design</i> dos anos de 2011 a 2021 indexadas na base de dados Scopus.....	44
Figura 2 - Estrutura molecular do (<i>R,S</i>)-baclofeno.....	49
Figura 3 - Espectros sobrepostos na região do UV da (a) solução de baclofeno SQR e da (b) solução de baclofeno matéria-prima a 50,0 µg/mL em água ultrapura.....	59
Figura 4 - Curva de aquecimento obtida por DSC para a matéria-prima baclofeno em fluxo de nitrogênio de 50 mL/min e taxa de aquecimento de 10 °C/minuto.....	61
Figura 5 – Espectro de Massas da matéria-prima baclofeno a 50,0 µg/mL em água ultrapura.....	62
Figura 6 - Cromatograma da solução padrão de baclofeno 10,0 µg/mL.....	139
Figura 7 - Cromatograma da (a) solução placebo da Formulação XS e Cromatograma da (b) SFXS de baclofeno a 10,0 µg/mL.....	140
Figura 8 - Cromatograma da (a) solução placebo da Formulação CMC e Cromatograma da (b) SFCCMC de baclofeno a 10,0 µg/mL.....	140
Figura 9 - Cromatogramas do estudo de degradação forçada da Formulação XS após submissão à hidrólise ácida em HCl 1 M (a), hidrólise básica em NaOH 1 M (b), exposição à luz UV-A (c), exposição à luz UV-C (d), oxidação em peróxido de hidrogênio 3% (e) e temperatura de 60 °C (f), por 24 horas...	141
Figura 10 - Cromatogramas do estudo de degradação forçada da Formulação CMC após submissão à hidrólise ácida em HCl 1 M (a), hidrólise básica em NaOH 1 M (b), exposição à luz UV-A (c), exposição à luz UV-C (d), oxidação em peróxido de hidrogênio 3% (e) e temperatura de 60 °C (f), por 24 horas.....	142
Figura 11 - Representação gráfica das curvas padrão de baclofeno (A, B e C) obtidas pelo método de CLAE aquiral.....	143
Figura 12 - Representação gráfica da distribuição dos resíduos da linearidade para o baclofeno obtidos por CLAE aquiral.....	145
Figura 13 - (a) Cromatograma da solução padrão de baclofeno 10,0 µg/mL, (b) Cromatograma da solução amostra de baclofeno 10,0 µg/mL, (c) Cromatograma da solução padrão de (<i>R</i>)-baclofeno 10,0 µg/mL, (d) Cromatograma da solução padrão de (<i>S</i>)-baclofeno 10,0 µg/mL.....	149
Figura 14 - Estrutura molecular do (a) (<i>R</i>)-baclofeno e (b) (<i>S</i>)-baclofeno.....	151

Figura 15 - Cromatograma da solução padrão de (R,S)-baclofeno 50,0 µg/mL.....	153
Figura 16 - Cromatograma da solução amostra de baclofeno 50,0 µg/mL.....	154
Figura 17 - (a) Cromatograma da solução SP _{S-BACLO} 10,0 µg/mL e (b) Cromatograma da solução SP _{R-BACLO} 10,0 µg/mL.....	155
Figura 18 - (a) Cromatograma da solução SF _{XS} contendo baclofeno 100,0 µg/mL e (b) Cromatograma da solução SF _{CMC} contendo baclofeno 100,0 µg/mL.....	156

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estudos de desenvolvimento e validação de metodologia para quantificação de baclofeno por CLAE.....	50
Tabela 2 - Condições cromatográficas do método analítico para determinação de baclofeno em suspensão por CLAE conforme Farmacopeia Americana.....	125
Tabela 3 - Condições cromatográficas utilizadas na validação do método analítico para determinação de baclofeno por CLAE.....	127
Tabela 4 - Diluições realizadas no preparo das soluções para avaliação da exatidão.....	132
Tabela 5 - Condições cromatográficas do método analítico para determinação dos enantiômeros de baclofeno conforme Ali e colaboradores (2017)	133
Tabela 6 - Parâmetros resultantes da avaliação das diferentes colunas cromatográficas e condições de vazão da fase móvel no desenvolvimento de metodologia para quantificação de baclofeno por CLAE aquiral.....	136
Tabela 7 - Parâmetros resultantes da avaliação das diferentes colunas cromatográficas e proporção dos solventes da fase móvel no desenvolvimento de metodologia para quantificação de baclofeno por CLAE aquiral.....	137
Tabela 8 - Parâmetros resultantes da avaliação da coluna cromatográfica selecionada e variação da temperatura do sistema no desenvolvimento de metodologia para quantificação de baclofeno por CLAE aquiral.....	137
Tabela 9 - Parâmetros de adequabilidade do sistema obtidos por CLAE aquiral.....	138
Tabela 10 - Resultados da curva padrão para o baclofeno obtidos pelo método de CLAE aquiral.....	144
Tabela 11 - Análise de variância das áreas determinadas para obtenção da curva padrão de baclofeno por CLAE aquiral.....	144
Tabela 12 - Resultados do estudo da precisão para a Formulação XS e Formulação CMC obtidos por CLAE aquiral.....	146
Tabela 13 - Resultados do estudo da exatidão para a Formulação XS e Formulação CMC obtidos por CLAE aquiral.....	146
Tabela 14 - Resultados do estudo da robustez para a Formulação XS e Formulação CMC obtidos por CLAE aquiral.....	147
Tabela 15 - Condições cromatográficas avaliadas para desenvolvimento de	

metodologia para separação e quantificação dos enantiômeros de baclofeno por CLAE quiral.....	148
Tabela 16 - Parâmetros resultantes da variação da vazão da fase móvel no desenvolvimento de metodologia para separação e quantificação dos enantiômeros de baclofeno 1,0 mg/mL.....	152
Tabela 17 - Parâmetros resultantes da variação da vazão da fase móvel no desenvolvimento de metodologia para separação e quantificação dos enantiômeros de baclofeno 50,0 µg/mL.....	153
Tabela 18 - Parâmetros de adequabilidade do sistema obtidos por CLAE quiral.....	154
Tabela 19 - Resultados do teor de (S)-baclofeno e (R)-baclofeno na Formulação XS armazenada em frascos de vidro âmbar em temperatura ambiente, sob refrigeração e em estufa durante 84 dias.....	156
Tabela 20 - Resultados do teor de (S)-baclofeno e (R)-baclofeno na Formulação CMC armazenada em frascos de vidro âmbar em temperatura ambiente, sob refrigeração e em estufa durante 84 dias.....	156

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 – Determinação do Limite de Detecção (LD).....	130
Equação 2 – Determinação do Limite de Quantificação (LQ).....	130
Equação 3 – Determinação da concentração de baclofeno nas formulações (C _A).....	131
Equação 4 – Determinação da concentração percentual de baclofeno na formulação (C _A %)	131
Equação 5 – Determinação da percentagem de recuperação (R%)	132

LISTA DE ABREVIATURAS

ACN	Acetonitrila
ANVISA	Agência Nacional Vigilância Sanitária
BP	<i>British Pharmacopoeia/Farmacopeia Britânica</i>
CAS	<i>Chemical Abstracts Service</i>
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CMC	Carboximetilcelulose
CMCNa	Carboximetilcelulose Sódica
CPPs	<i>Critical Process Parameters/Parâmetros Críticos do Processo</i>
CQAs	<i>Critical Quality Attributes/Atributos Críticos da Qualidade</i>
DoE	<i>Design of Experiments/Desenho Experimental</i>
DS	<i>Design Space</i>
DSC	<i>Differential Scanning Calorimetry/Calorimetria Exploratória</i> Diferencial
FB	Farmacopeia Brasileira
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FEQ	Fase Estacionária Quiral
GABA	Ácido gama-aminobutírico
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
ICH	<i>International Conference on Harmonisation/Conferência</i> Internacional de Harmonização
IFA	Insumo Farmacêutico Ativo
JP	<i>The Japanese Pharmacopoeia/Farmacopeia Japonesa</i>
LCQFar	Laboratório de Controle de Qualidade Farmacêutico
MS	<i>Mass Spectrometry/Espectrometria de Massas</i>
N	Pratos téóricos
QbD	<i>Quality by Design</i>
QTPP	<i>Quality Target Product Profile / Perfil de Qualidade do Produto</i>
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SA	Solução Amostra contendo baclofeno matéria-prima
SE	Solução Estoque
SF _{xs}	Solução de Formulação contendo Xarope Simples como veículo

SF _{CMC}	Solução de Formulação contendo solução de Carboximetilcelulose Sódica como veículo
SP	Solução Padrão contendo baclofeno SQR
SP _{R-BACLO}	Solução Padrão contendo (<i>R</i>)-baclofeno
SP _{S-BACLO}	Solução Padrão contendo (<i>S</i>)-baclofeno
SQR	Substância Química de Referência
T	Fator cauda
T _R	Tempo de Retenção
USP	<i>The United States Pharmacopoeia</i> /Farmacopeia Americana
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
UV	Ultravioleta
XS	Xarope Simples

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	25
2. OBJETIVOS.....	31
2.1. Objetivo Geral.....	33
2.2. Objetivos Específicos.....	33
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	35
3.1 A problemática das formulações líquidas de uso oral no âmbito hospitalar.....	37
3.2 Desenvolvimento de formulações líquidas de uso oral.....	39
3.2.1 Estudos de Pré-formulação.....	40
3.2.2 <i>Quality by Design</i> (QbD).....	41
3.2.3 Estudos de Estabilidade.....	45
3.3 Fármacos e Quiralidade.....	47
3.4 Baclofeno.....	49
4. CAPÍTULO I: CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA BACLOFENO.....	55
4.1 Introdução.....	57
4.2 Materiais.....	57
4.3 Método.....	57
4.3.1 Espectrofotometria na Região do Ultravioleta (UV).....	58
4.3.1.1 Resultados e Discussão.....	58
4.3.2 Faixa de Fusão.....	59
4.3.2.1 Resultados e Discussão.....	59
4.3.3 Análise Térmica por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	60
4.3.3.1 Resultados e Discussão.....	60
4.3.4 Espectrometria de Massas (MS).....	61
4.3.4.1 Resultados e Discussão.....	62
4.4 Conclusões.....	62
5. CAPÍTULO II: DESENVOLVIMENTO, OTIMIZAÇÃO BASEADA NA	

ABORDAGEM <i>QUALITY BY DESIGN</i> E AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE FORMULAÇÕES ORAIS LÍQUIDAS CONTENDO BACLOFENO PARA USO HOSPITALAR.....	63
5.1 Introdução.....	65
5.2 Artigo Científico: Development, Quality by Design-based Optimization, and Stability Assessment of Oral Liquid Formulations Containing Baclofen for Hospital Use	69
6. CAPÍTULO III: DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE BACLOFENO E SEUS ENANTIÔMEROS EM FORMULAÇÕES ORAIS LÍQUIDAS.....	119
6.1 Introdução.....	121
6.2 Materiais.....	122
6.2.1 Matéria-prima, Substância Química de Referência e Excipientes.....	122
6.2.2 Solventes e Reagentes.....	123
6.2.3 Equipamentos e Acessórios.....	123
6.3 Método.....	124
6.3.1 Desenvolvimento da Metodologia Analítica Aquiral.....	125
6.3.2 Validação da Metodologia Analítica Aquiral.....	126
6.3.2.1 Seletividade.....	127
6.3.2.2 Linearidade.....	130
6.3.2.3 Limite de Detecção e Limite de Quantificação.....	130
6.3.2.4 Precisão (Repetibilidade e Precisão Intermediária)	131
6.3.2.5 Exatidão.....	131
6.3.2.6 Robustez.....	133
6.3.3 Desenvolvimento da Metodologia Analítica Quiral.....	133
6.3.4 Validação da Metodologia Analítica Quiral.....	134
6.3.5 Avaliação da estabilidade quiral das formulações desenvolvidas.....	135
6.4 Resultados e Discussão.....	135
6.4.1 Metodologia Analítica Aquiral.....	135
6.4.2 Metodologia Analítica Quiral.....	148
6.5 Conclusões.....	157
7. DISCUSSÃO GERAL.....	159

8. CONCLUSÕES.....	167
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	171

1. INTRODUÇÃO

Muitos medicamentos comercializados no mercado nacional estão disponíveis somente na forma farmacêutica sólida, como cápsulas ou comprimidos, não possuindo a apresentação líquida oral com dosagem adequada para uso pediátrico e que facilite a administração para pacientes adultos com dificuldade de deglutição ou sob utilização de sondas de alimentação. Tal problemática é agravada, principalmente no contexto hospitalar, em que a prescrição de medicamentos sob forma não licenciada ou não padronizada faz parte da rotina (CARVALHO *et al.*, 2003; COSTA, LIMA e COELHO, 2009; FERREIRA *et al.*, 2012; HEINECK, BUENO e HEYDRICH, 2009; MAGALHÃES *et al.*, 2015; STANDING e TULEU, 2005). Esta realidade faz com que os hospitais desenvolvam alternativas para administração destes produtos através da derivação de formas farmacêuticas sólidas em líquidas, originando preparações extemporâneas que, muitas vezes, não dispõem de informações sobre sua estabilidade, segurança e eficácia, podendo comprometer o tratamento (COSTA, LIMA e COELHO, 2009; HAYWOOD e GLASS, 2013; SANTOS e HEINECK, 2011). Preparações líquidas de uso oral, como soluções e suspensões, são as mais adequadas na prática hospitalar para o tipo de pacientes supracitado, devido à facilidade de ajuste das doses e das características sensoriais, bem como pela adequabilidade na administração (BARKER, 2016; COSTA, LIMA e COELHO, 2009; MURDAN, 2016).

Apesar das vantagens inerentes às formas farmacêuticas líquidas, o seu desenvolvimento e preparo envolve desafios relativos a sua estabilidade, palatabilidade, viscosidade, uniformidade/homogeneidade entre outras (BARKER, 2016; CARRANZA e TORREJÓN, 2007; MURDAN, 2016; PATEL *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2016). Para o desenvolvimento de uma formulação líquida são necessários estudos de pré-formulação com o objetivo de reunir o máximo de informações a respeito do(s) fármaco(s) e excipiente(s) para obtenção de formulações estáveis, seguras e eficazes (GAISFORD, 2016; GIBSON, 2009; ICH, 2009). Este desenvolvimento pode se beneficiar da aplicação do conceito de *quality by design* (QbD), visando a otimização das formulações e de seu processo produtivo, empregando por exemplo, o delineamento experimental (FUKUDA *et al.*, 2018; GRANGEIA *et al.*, 2020; ICH, 2009; YU, 2008; YU *et al.*, 2014). Devido a

maior suscetibilidade à instabilidade característica das formulações líquidas, são necessários estudos de estabilidade para avaliação de aspectos físico-químicos, microbiológicos e, no caso de fármacos quirais, a ocorrência ou não do fenômeno de inversão quiral, que pode afetar a eficácia e segurança de tais formulações (BRASIL, 2019a; DAVIES, 2004; WSÓL, SKÁLOVÁ e SZOTÁKOVÁ, 2004).

Os fármacos quirais podem ser encontrados no mercado farmacêutico na sua forma racêmica, como enantiômeros isolados ou em diferentes proporções de uma mistura. Devido à estereoespecificidade das interações moleculares, característica dos receptores biológicos, os enantiômeros de fármacos podem ter perfis de atividade biológica distintos, originando diferenças na farmacodinâmica e na farmacocinética, e conseqüente distinção quanto a sua absorção, metabolismo, potência e toxicidade. Por este motivo, o controle de qualidade estereoquímico faz-se necessário para garantia da segurança e eficácia dos mesmos (AHUJA, 2011; MAIER, FRANCO e LINDNER, 2001; SOLOMONS e FRYHLE, 2012).

O baclofeno é um fármaco quiral, relaxante muscular de ação central de escolha para o tratamento de espasticidade em adultos e crianças. No Brasil é comercializado somente sob a forma de comprimidos orais, não dispondo de apresentação líquida. É administrado como racemato e apresenta diferenças de potência entre seus enantiômeros e, conseqüentemente, em seu metabolismo e ação farmacológica (NOVARTIS, 2021). Observa-se uma escassez de estudos descritos na literatura científica sobre a avaliação da estabilidade de preparações extemporâneas derivadas das formas sólidas contendo este fármaco, bem como sobre o desenvolvimento de formulações orais líquidas e sua estabilidade físico-química, microbiológica e quiral (ALLEN e ERICKSON, 1996; FERREIRA *et al.*, 2017; JOHNSON e HART, 1993). Para utilização do mesmo por pacientes pediátricos e pacientes adultos com dificuldade de deglutição ou que utilizam sondas para alimentação, em âmbito hospitalar, as formas farmacêuticas líquidas são as mais adequadas.

O baclofeno integra uma relação de fármacos prescritos na rotina do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) para uso adulto e pediátrico que não apresentam preparações orais líquidas disponíveis no mercado brasileiro. Desta forma, justifica-se o desenvolvimento e avaliação da estabilidade de formulações

orais líquidas contendo o mesmo, visando facilitar a administração em pacientes pediátricos e adultos e contribuir com a prática da Farmácia Semi-industrial do HCPA e de outros hospitais. As informações geradas neste trabalho contribuirão para atendimento de uma demanda real da rotina hospitalar, contemplando as necessidades do preparo de tais formulações, bem como fornecendo dados sobre a estabilidade das mesmas e a garantia de um tratamento seguro e eficaz.

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver formulações orais líquidas contendo baclofeno, isentas ou não de açúcar, a partir da matéria-prima do fármaco, como alternativa na terapêutica de pacientes pediátricos e pacientes adultos com dificuldade de deglutição, internados em ambiente hospitalar, otimizá-las através da abordagem do *quality by design* e avaliar sua estabilidade.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar a matéria-prima baclofeno;
- Realizar estudos de pré-formulação para definição dos excipientes e processos a serem utilizados no desenvolvimento de formulações líquidas de uso oral contendo baclofeno;
- Aplicar a metodologia de *quality by design* no desenvolvimento das formulações para auxiliar na escolha e otimização dos excipientes, bem como de suas concentrações de uso e avaliar o impacto das variáveis relacionadas ao processo produtivo;
- Preparar formulações orais líquidas apontadas pelo estudo de *quality by design* contendo diferentes adjuvantes farmacotécnicos e incorporar o fármaco baclofeno;
- Desenvolver e validar método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) quiral e aquiral para determinação quantitativa do fármaco baclofeno nas formulações líquidas propostas, bem como de seus respectivos enantiômeros;

- Avaliar as formulações obtidas frente às suas características sensoriais, aspecto, pH, viscosidade e doseamento do fármaco alvo deste estudo;
- Avaliar a estabilidade físico-química, microbiológica e quiral das formulações propostas;
- Propor o intervalo de tempo confiável para a utilização das formulações desenvolvidas, o tipo de embalagem e as condições de armazenamento mais adequadas, a partir dos estudos de estabilidade físico-química, quiral e microbiológica.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 A problemática das formulações líquidas de uso oral no âmbito hospitalar

A maioria dos medicamentos de uso oral disponíveis no mercado nacional encontram-se somente sob a forma farmacêutica sólida, como comprimidos e cápsulas. A carência de formas farmacêuticas líquidas orais adequadas para uso em pacientes pediátricos e para pacientes adultos que utilizam sondas para alimentação, bem como aqueles com disfagia (dificuldade de deglutição), envolve uma gama de produtos de grande utilidade clínica e constitui um problema de saúde pública. No Brasil, alguns estudos evidenciaram a relevância do problema, particularmente no contexto hospitalar, onde o uso de medicamentos sob forma não licenciada ou não padronizada (*off-label*) para estes pacientes é uma realidade, superando a faixa de 20% das prescrições (CARVALHO *et al.*, 2003; COSTA, LIMA e COELHO, 2009; FERREIRA *et al.*, 2012; HEINECK, BUENO e HEYDRICH, 2009; MAGALHÃES *et al.*, 2015; STANDING e TULEU, 2005). Santos e Heineck (2011) avaliaram as preparações extemporâneas orais obtidas de medicamentos reformulados pela farmácia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e identificaram que estas derivações corresponderam a 3,8% dos itens avaliados nas prescrições, estando o baclofeno entre os mais solicitados (18,9%).

O termo *off-label* abrange aqueles medicamentos que são prescritos de forma diferente daquelas indicadas na bula, estando alteradas a dose, a frequência ou a via de administração (LANGEROVÁ, VRTAL e URBÁNEK, 2014). No contexto mundial, constam na literatura científica estudos que demonstram a ampla utilização de medicamentos *off-label* com prevalência acima de 90% para recém-nascidos e pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva (DELL'AERA *et al.*, 2007; DI PAOLO *et al.*, 2006; LASS *et al.*, 2011; PANDOLFINI e BONATI, 2005).

As diretrizes brasileiras que determinam as boas práticas de manipulação de medicamentos em ambiente hospitalar estão descritas no Anexo VI da Resolução da Diretoria Colegiada nº 67 de 08/10/2007 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a qual dispõe sobre as Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais de Uso Humano em farmácias. Neste anexo estão descritos

conceitos relacionados às preparações extemporâneas e o processo de derivação/transformação de uma forma farmacêutica no preparo de doses unitarizadas para os pacientes. Conforme a normativa, as derivações preparadas em ambiente hospitalar devem ter justificativa técnica ou base em literatura científica para assegurar a qualidade microbiológica, química e física dos produtos obtidos. Além disso, o medicamento obtido deve ter uso extemporâneo, ou seja, ser utilizado em até 48 horas após seu preparo. Tais determinações reforçam a necessidade de comprovação científica da estabilidade destas preparações com o objetivo de assegurar as características de qualidade, eficácia e segurança do produto (BRASIL, 2007a).

No que se refere à carência de formulações apropriadas para os pacientes em questão, a prescrição de adaptações de forma ou formulação específica para adultos ou para crianças de outro subgrupo etário, leva ao desenvolvimento de estratégias por parte dos hospitais. Formas farmacêuticas sólidas são geralmente adaptadas para formulações líquidas, através do processo denominado de derivação. Para tal, é realizada a trituração de comprimidos e posterior dispersão ou dissolução dos mesmos em determinados veículos ou utilização do conteúdo disperso/dissolvido de cápsulas, trazendo riscos de erros de cálculos, inexatidão de dose, contaminação durante a manipulação, perda de estabilidade, incompatibilidades e possíveis interações. Alterações na farmacocinética do fármaco podem ocorrer, decorrentes de diferenciada liberação e absorção do mesmo, e, conseqüentemente, em sua ação farmacológica, podendo comprometer sua eficácia terapêutica. Outra situação preocupante é a prescrição de soluções injetáveis ou o uso do pó para injetável no preparo de formulações líquidas para uso oral. Tais preparações não devem ser administradas para uso oral, pois podem conter excipientes contraindicados para uso por esta via, além da baixa biodisponibilidade (COSTA, LIMA e COELHO, 2009; HAYWOOD e GLASS, 2013; SANTOS e HEINECK, 2011). Os profissionais de saúde envolvidos na manipulação destas preparações necessitam saber como formular, diluir, estocar e administrar os medicamentos, muitas vezes sem o suporte de informações (NAHATA e ALLEN, 2008).

O preparo de formulações extemporâneas sob formas farmacêuticas líquidas, bem como a escassez de formulações padronizadas e de evidências de

estabilidade, coloca em risco a eficácia e segurança dos tratamentos. Preparações extemporâneas líquidas obtidas através da adaptação de formas sólidas são um desafio considerável, devido à estabilidade do produto final e a necessidade de adição de outros excipientes para promover a adesão por parte dos pacientes (GLASS e HAYWOOD, 2006; HAYWOOD e GLASS, 2013; SANTOS e HEINECK, 2011; STANDING e TULEU, 2005). Diversos medicamentos de ampla utilização já são comercializados na forma líquida em outros países da Europa e nos Estados Unidos, o que evidencia a urgência de políticas e regulamentação específicas para o setor (BRASIL, 2017a; BREITKREUTZ, 2008; EMEA, 2014; FDA, 2022).

Uma formulação ideal para uso na prática hospitalar deve apresentar facilidade de preparo pelo farmacêutico e de administração pela enfermeira, concentração e volume suficientes para obtenção da medida ou da dosagem necessária, sabor agradável e dados científicos que respaldem seu preparo e a determinação do prazo de validade. Preparações líquidas são as mais adequadas para uso em pacientes pediátricos e em adultos que apresentam dificuldade de deglutição, devido à facilidade de ajuste das doses e das características sensoriais, bem como pela facilidade na administração (COSTA, LIMA e COELHO, 2009). As formas farmacêuticas líquidas de uso oral como as suspensões ou soluções são usadas preferencialmente, pois apresentam vantagens de facilidade de preparação, administração e versatilidade na obtenção de doses múltiplas. Por outro lado, carecem de informações sobre estabilidade, visto que são menos estáveis que as sólidas e facilmente contamináveis (BARKER, 2016; CARRANZA e TORREJÓN, 2007; MURDAN, 2016; PATEL *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2016).

3.2 Desenvolvimento de formulações líquidas de uso oral

Conforme diretrizes estabelecidas pela Conferência Internacional de Harmonização (ICH, *International Conference on Harmonisation*) em seus documentos técnicos Q6A e Q8(R2), o objetivo do desenvolvimento farmacêutico é projetar um produto de qualidade e seu processo de produção que atendam as especificações determinadas e o desempenho pretendido (ICH, 1999 e 2009).

As formas farmacêuticas líquidas de uso oral, como soluções, suspensões e xaropes, apresentam vantagens em relação às formas farmacêuticas sólidas, pela

flexibilidade de dosagem, facilidade de administração e absorção facilitada, pois o fármaco encontra-se disperso ou dissolvido no meio dispersante ou solvente, estando mais disponível para a absorção. No entanto, o desenvolvimento das mesmas apresenta-se como um desafio, visto que os componentes da formulação podem apresentar menor estabilidade por estarem mais susceptíveis a processos de degradação físico-química, como por exemplo, hidrólise, oxidação ou redução. Há também um maior favorecimento da proliferação de microrganismos, podendo ocasionar instabilidade microbiológica (MURDAN, 2016). Aspectos relacionados a palatabilidade da formulação, ou seja, textura, sabor e odor, são também fatores importantes a serem considerados no desenvolvimento de formulações orais líquidas, principalmente para pacientes pediátricos (BRUNS e OBER, 2018; CRAM *et al.*, 2009).

Para o desenvolvimento de uma formulação oral líquida é necessária, inicialmente, uma avaliação criteriosa das características do(s) fármaco(s) e excipiente(s) a serem utilizados, com o objetivo de gerar o máximo de informações úteis para proceder o desenvolvimento de formulações estáveis, seguras, eficazes e com biodisponibilidade adequada do fármaco. Esta etapa compreende os estudos de pré-formulação, os quais podem ser complementados e otimizados por estudos de delineamento experimental, como por exemplo, através do conceito de *quality by design* (QbD) (FUKUDA *et al.*, 2018; GAISFORD, 2016; GRANGEIA *et al.*, 2020; ICH, 2009; YU, 2008; YU *et al.*, 2014).

3.2.1 Estudos de Pré-formulação

Os estudos de pré-formulação compõem as fases iniciais do desenvolvimento farmacêutico e são, notadamente, decisórios para a eleição da forma farmacêutica na qual o insumo farmacêutico ativo será incorporado e servem de subsídios para a escolha dos excipientes adequados. O profundo conhecimento das características físico-químicas dos fármacos e dos excipientes cumprem um significativo papel na antecipação de problemas de formulação, o que é revertido em ganho de tempo, custo e na maior certeza em relação a qualidade, segurança e eficácia do produto final (GAISFORD, 2016; GIBSON, 2009).

É realizada uma investigação das propriedades físico-químicas dos fármacos e excipientes pré-selecionados para veiculá-los, com auxílio da literatura e de diferentes técnicas analíticas, avaliando-se características como: descrição física, solubilidade, permeabilidade, tamanho de partícula, pKa, polimorfismo, pH, estabilidade, ponto de fusão, pureza, densidade, entre outras (ALLEN, POPOVICH e ANSEL, 2005; GAISFORD, 2016; ICH, 2009; PATEL *et al.*, 2011).

Visto que os excipientes podem atuar como promotores de características desejáveis e indesejáveis do fármaco, é de extrema importância avaliar a compatibilidade dos mesmos com o insumo farmacêutico ativo, com o objetivo de prever a possível ocorrência de incompatibilidades entre componentes da formulação, evitando o inesperado em fases mais avançadas do desenvolvimento farmacêutico. As informações sobre o desempenho dos excipientes podem ser utilizadas, conforme apropriado, para justificar a escolha dos mesmos e a especificação do produto final (ICH, 2009; STORPIRTIS *et al.*, 2009). Tais incompatibilidades podem resultar em mudanças nas propriedades físicas, químicas, microbiológicas ou terapêuticas da forma farmacêutica. Como exemplo destas mudanças, temos: alterações na cor e na aparência, mudança nas características de dissolução, decréscimo da potência do fármaco, formação de produtos de degradação, entre outras (BHARATE, BHARATE e BAJAJ, 2010; GIBSON, 2009).

3.2.2 *Quality by Design* (QbD)

O desenvolvimento farmacêutico apresenta-se complexo devido ao número de processos e variáveis envolvidas, os quais podem afetar diretamente a qualidade do produto final. Desta forma, se faz necessário o controle sistemático dos mesmos a fim de monitorar a qualidade em todo o processo, indo de encontro às exigências regulatórias para concessão e modificações de registro de produtos farmacêuticos (BRASIL, 2019b; ICH, 2008 e 2009). Como alternativa para este controle, pode ser empregada a técnica do *quality by design* (QbD), conceito que foi utilizado primeiramente na indústria farmacêutica para aprimorar o processo produtivo de desenvolvimento e produção de medicamentos. O termo *quality by design*, em português traduzido para “qualidade baseada no projeto”, está definido pela Conferência Internacional de Harmonização (ICH, *International Conference on*

Harmonisation) no documento técnico ICH Q8(R2) como sendo “uma abordagem sistemática para o desenvolvimento que começa com objetivos predefinidos e enfatiza a compreensão e controle de produtos e processos, com base na ciência e gerenciamento de riscos de qualidade”. Além disso, reforça que “a qualidade não deve ser testada nos produtos, ela deve ser introduzida no projeto” (ICH, 2009; YU, 2008; YU *et al.*, 2014).

A implementação do conceito de QbD inicia com a definição do objetivo a ser alcançado, ou seja, o perfil de qualidade do produto (QTPP, *quality target product profile*), que compreende um resumo das características de qualidade que idealmente serão alcançados para garantir o perfil desejado, levando em consideração a segurança e eficácia do produto. Este compreende um conjunto de atributos críticos da qualidade (CQAs, *critical quality attributes*) que são as propriedades ou características físicas, químicas, biológicas ou microbiológicas que devem estar dentro de um limite apropriado, faixa ou distribuição para atestarem a reprodutibilidade e qualidade do produto, devendo ser estabelecidos e monitorados. Estão geralmente associados ao fármaco, excipientes, produto intermediário ou medicamento. É preciso também definir os parâmetros críticos do processo (CPPs, *critical process parameters*), cuja variação poderá interferir sobre algum atributo crítico de qualidade e, portanto, devem ser monitorados ou controlados para garantir que o processo produza a qualidade desejada (FUKUDA *et al.*, 2018; GRANGEIA *et al.*, 2020; ICH, 2009; LIONBERGER *et al.*, 2008; YU, 2008; YU *et al.*, 2014).

Posteriormente é realizada a etapa de avaliação de riscos (*risk assesment*) que tem por objetivo relacionar os CPPs e os CQAs ao objetivo de qualidade definido (QTPP), ou seja, quais os impactos que os parâmetros críticos do processo podem gerar sobre os atributos críticos da qualidade e conseqüentemente afetar o objetivo de qualidade inicialmente proposto. É uma etapa tipicamente realizada no início do processo de desenvolvimento farmacêutico e pode ser repetida ao longo do mesmo à medida que mais informações são adquiridas e a compreensão a respeito do processo e do produto aumenta. Ferramentas de avaliação de risco, como o Diagrama de Ishikawa, podem ser utilizadas para identificar e classificar os parâmetros com potencial impacto na qualidade do produto, com base em conhecimentos prévios e dados experimentais iniciais (FUKUDA *et al.*, 2018; GRANGEIA *et al.*, 2020; ICH, 2009; LIONBERGER *et al.*, 2008).

Para auxiliar na escolha dos experimentos a serem realizados e otimizar o tempo e custo de desenvolvimento, é realizada a etapa de Desenho Experimental (DoE, *design of experiments*), no qual é realizada uma avaliação multifatorial entre as variáveis do processo, denominadas de fatores ou parâmetros, direcionando para os experimentos a serem realizados de forma mais eficiente. Compreende uma etapa inicial de varredura (*screening*) e uma etapa posterior de otimização dos dados. Depois de analisados estatisticamente, os resultados do DoE relacionam os fatores estudados e suas respostas e uma avaliação multidimensional é gerada, denominada de *Design Space* (DS). Este termo é definido como a relação entre os parâmetros críticos do processo e os atributos críticos da qualidade. Os dados dos experimentos adquiridos com DoE e as ferramentas de previsão de *software* utilizado geram a otimização das variáveis, direcionando para uma condição ótima de acordo com as especificações pretendidas (CAVAZZUTI, 2013; FUKUDA *et al.*, 2018; GRANGEIA *et al.*, 2020; ICH, 2009).

Os pontos fundamentais da abordagem QbD são as ferramentas de estruturação do conhecimento do processo, fazendo com que todas as variáveis relevantes à qualidade do produto sejam identificadas e que estratégias de controle sejam implementadas ao processo (BEZERRA e RODRIGUES, 2017). Alguns dos elementos do QbD incluem o aumento da capacidade do processo e a redução da variabilidade e defeitos do produto, através do aprimoramento do *design*, compreensão do processo e do controle, bem como percepção do produto com identificação dos atributos críticos da qualidade e melhoria contínua (CAVAZZUTI, 2013; YU *et al.*, 2014).

O número de estudos científicos envolvendo a abordagem do *quality by design*, com aplicação em áreas diversas, tem aumentado ao longo dos anos, como pode ser observado na Figura 1, conforme levantamento realizado na base de dados Scopus, empregando o termo *quality by design*, no período de 2011 a 2021. Da mesma forma a utilização do conceito de QbD é cada vez mais frequente em relação ao desenvolvimento farmacêutico. Charoo e colaboradores (2012) aplicaram a abordagem do QbD no desenvolvimento de formulação de comprimidos dispersíveis de diclofenaco, sendo realizados estudos de compatibilidade do fármaco com os excipientes propostos, entre outros, visando uma melhor adesão dos pacientes e qualidade do produto final. Patel e colaboradores (2016) desenvolveram uma

formulação de gel oftálmico *in situ* contendo fosfato de dexametasona e sulfato de tobramicina, através da aplicação da técnica de *quality by design*, avaliando diferentes polímeros como agente gelificante da formulação. Deng e colaboradores (2011) examinaram o efeito das variações nas propriedades físico-químicas da hipromelose nas propriedades físicas de comprimidos contendo teofilina e no perfil de liberação do fármaco de matrizes hidrofílicas de liberação prolongada. Palekar e colaboradores (2019) desenvolveram mini comprimidos de baclofeno por impressão 3-D para uso pediátrico e aplicaram a abordagem QbD para otimização da formulação e auxílio na investigação sistemática dos atributos críticos da qualidade envolvidos na liberação do fármaco.



Figura 1 - Publicações científicas envolvendo a abordagem *quality by design* dos anos de 2011 a 2021 indexadas na base de dados Scopus.

Após pesquisa realizada com onze empresas dos Estados Unidos e Reino Unido, da área de desenvolvimento e produção farmacêutica, que utilizam a técnica de *quality by design*, Kourti e Davis (2012) apontaram diversos benefícios desta abordagem, tais como: melhoria no conhecimento dos processos e produtos, melhoria na qualidade do produto e em sua reprodutibilidade e estabilidade, maior rapidez no desenvolvimento de produtos e inclusão no mercado, aumento da capacidade e robustez do processo, redução de não-conformidades, redução de custos, entre outros. Sua aplicação no desenvolvimento e produção farmacêuticos

constitui uma ferramenta promissora, pois a previsão de riscos aliada a redução de tempo e de custos, amplia a possibilidade de originar produtos seguros, eficazes e com qualidade assegurada (BEZERRA e RODRIGUES, 2017; FUKUDA *et al.*, 2018; GRANGEIA *et al.*, 2020).

3.2.3 Estudos de Estabilidade

A estabilidade de uma formulação pode ser definida como a capacidade da mesma, em determinado material de acondicionamento, manter suas características químicas, físicas, microbiológicas, terapêuticas e toxicológicas por um período definido (O'DONNELL e BOKSER, 2013). A estabilidade de produtos farmacêuticos depende de fatores ambientais como temperatura, umidade, luz, e de fatores do próprio produto, como propriedades físicas e químicas do insumo farmacêutico ativo e dos excipientes, forma farmacêutica, processo de fabricação, tipo e propriedade dos materiais de embalagem (BRASIL, 2019a).

A Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 318 de 6/11/2019 da ANVISA estabelece critérios para a realização de estudos de estabilidade de insumos farmacêuticos ativos e medicamentos. Conforme a normativa, o produto deve ser submetido a condições de temperatura e umidade em função do tempo, sendo realizados estudos de estabilidade acelerado, de longa duração e de acompanhamento. No desenvolvimento de formulações é necessária a realização de tais estudos que permitam prever o comportamento do fármaco e dos componentes da formulação, sob influência dos elementos supracitados em função do tempo, para garantir que o produto atenda suas especificações durante todo o período de armazenamento. A partir dessas investigações é possível determinar o prazo de validade, o material de embalagem, as condições de armazenamento e transporte do mesmo (BRASIL, 2019a).

Para avaliação da estabilidade de formas farmacêuticas orais líquidas diversos parâmetros devem ser avaliados em relação às suas características químicas, físicas e microbiológicas, tais como: aspecto, cor, odor, viscosidade, pH, contagem microbiológica e pesquisa de patógenos, doseamento do insumo farmacêutico ativo (IFA), quantificação de produtos de degradação, entre outros (LEITE, 2005). A contaminação microbiana de um produto não estéril também pode

acarretar alterações em suas propriedades e ainda caracteriza o risco de infecção para o usuário. Para avaliar esta possível contaminação devem ser considerados os limites microbianos, o tipo de contaminação mais provável nas diferentes categorias de produtos e a via de administração (FB 6, 2019). No caso de o IFA ser um fármaco quiral, deve ser também avaliada a estabilidade quiral do mesmo, pois em solução ou suspensão, há a possibilidade de ocorrer o fenômeno de inversão quiral de um enantiômero no outro, o qual pode ser inativo ou, até mesmo, tóxico. A análise do processo de inversão quiral pode evidenciar alterações na estabilidade físico-química do ativo farmacêutico em preparações líquidas orais, possibilitando a verificação da manutenção da proporção entre as espécies componentes do racemato. Este fenômeno pode ser avaliado por cromatografia líquida de alta eficiência com auxílio de fases estacionárias quirais (FEQs) (CAVAZZINI *et al.*, 2011; LIMA, 1997; DAVIES, 2004; NGUYEN, HE E PHAM-HUY, 2006; WSÓL, SKÁLOVÁ e SZOTÁKOVÁ, 2004).

Neste contexto de estabilidade de formulações, a degradação de fármacos pode decorrer de fatores como temperatura, umidade, luz, excipientes, material de embalagem, entre outros, podendo resultar em alterações de características físicas, químicas e na sua eficácia terapêutica, bem como em potencial toxicidade (YOSHIOKA e STELLA, 2000). Conforme definido na RDC nº 53 de 4/12/2015 da ANVISA, “os produtos de degradação são impurezas resultantes de alterações químicas que surgem durante a fabricação ou armazenamento do medicamento” (BRASIL, 2015). Para avaliar a geração ou não dos mesmos em produtos farmacêuticos devem ser realizados estudos de degradação forçada submetendo o produto acabado a condições de estresse, como por exemplo, luz, temperatura, calor, umidade, hidrólise ácida/básica e oxidação, entre outras. Este estudo visa permitir o desenvolvimento de métodos indicativos de estabilidade com especificidade e seletividade adequada, bem como fornece informações acerca das possíveis rotas de degradação de um determinado IFA (BRASIL, 2015; BRASIL, 2019a).

Outro aspecto fundamental a ser considerado nos estudos de estabilidade são os materiais de acondicionamento e embalagem, que têm por objetivo garantir a integridade do produto, devendo ser atóxicos e compatíveis com os componentes do produto neles contido (PINTO, KANEKO e PINTO, 2010). O vidro é o material de

escolha para grande parte dos produtos farmacêuticos por apresentar resistência à decomposição pelas condições atmosféricas e pelos conteúdos sólidos ou líquidos com composições químicas variadas, além de ser reciclável, impermeável e inerte. Como desvantagens este material de embalagem temos a sua baixa resistência mecânica e o peso. O plástico tem seu uso crescente em embalagens de produtos farmacêuticos, compondo parte ou toda estrutura da mesma. Origina embalagens leves, resistentes mecanicamente, recicláveis em sua maioria. Porém, uma marcante desvantagem é sua permeabilidade e possível reatividade com componentes do produto armazenado (LACHMAN, LIEBERMAN e KANIG, 2010).

3.3 Fármacos e Quiralidade

Devido à característica de estereoespecificidade das interações moleculares realizadas pelos receptores biológicos, o controle da composição estereoquímica de fármacos quirais, desde a síntese até o consumo, faz-se necessário devido às diferenças nas respostas biológicas que podem decorrer da administração dos mesmos (MAIER, FRANCO e LINDNER, 2001; SOLOMONS e FRYHLE, 2012).

Diferenças na farmacodinâmica e na farmacocinética podem ocasionar distinção quanto absorção, metabolismo, potência e a toxicidade de cada enantiômero (AHUJA, 2011; SOLOMONS e FRYHLE, 2012). Em relação à ação farmacológica de fármacos quirais, comportamentos biológicos distintos podem ser esperados: (a) toda a atividade farmacológica é atribuída a apenas um dos enantiômeros, sendo que o outro é inativo; (b) os enantiômeros possuem idêntica atividade farmacológica, tanto qualitativamente, como quantitativamente; (c) os enantiômeros possuem a mesma ação farmacológica, mas potências diferentes; (d) os enantiômeros possuem diferentes ações farmacológicas, mas que são desejáveis terapeuticamente; (e) um dos enantiômeros é responsável pela ação farmacológica desejada e o outro pelos efeitos colaterais indesejados; (f) a ação farmacológica de um enantiômero, ou até mesmo seu efeito colateral, é antagonizada pelo outro enantiômero (LIMA, 1997).

Os enantiômeros de fármacos podem ter perfis de atividade biológica distintos, muitas vezes, com consequências graves. Após a tragédia da talidomida (1957-1961), em razão do (S)-(-)-enantiômero apresentar efeitos teratogênicos, foi

introduzido um rigoroso controle em relação à pureza dos enantiômeros utilizados na medicina, por parte das agências reguladoras mundiais, com atenção especial no caso de fármacos quirais (AHUJA, 2011; BERTHOD, 2010; SANTORO e SINGH, 2001; SOLOMONS e FRYHLE, 2012). Este controle levou as indústrias farmacêuticas a fornecerem evidências científicas para justificar sua escolha pela comercialização de um dado racemato ou de um de seus enantiômeros na inserção de novos fármacos. No Brasil, ao registrar um medicamento, renovar o registro ou no caso de uma alteração pós-registro, esta exigência regulatória está relacionada ao insumo farmacêutico ativo, devendo constar no dossiê as informações relacionadas à quiralidade do IFA (BRASIL, 2007b, 2007c, 2009a, 2009b, 2011, 2014a, 2016a e 2016b).

Os fármacos quirais podem ser comercializados na sua forma racêmica, como enantiômeros isolados ou em diferentes proporções de uma mistura. Em soluções ou suspensões, pode ocorrer o fenômeno denominado de inversão quiral, ou seja, a possibilidade de um enantiômero racemizar. Neste caso, um dos enantiômeros pode converter-se no seu antípoda, o qual pode ser inativo ou originar efeitos adversos ou tóxicos. As inversões quirais de fármacos variam em extensão, significado e mecanismos. Em muitos casos, uma inversão quiral altera a proporção de enantiômeros. Como os enantiômeros de um fármaco, assim como os de seus metabólitos, geralmente apresentam atividades biológicas distintas, ela pode alterar o efeito farmacodinâmico e o comportamento farmacocinético do fármaco. As consequências farmacológicas e toxicológicas de uma potencial inversão quiral em medicamentos quirais devem ser avaliadas. Se ocorre com um ou ambos os enantiômeros, pode ocorrer também no racemato. Sendo assim, deve-se avaliar a estabilidade quiral dos medicamentos administrados como racemato (DAVIES, 2004; NGUYEN, HE E PHAM-HUY, 2006; WSÓL, SKÁLOVÁ e SZOTÁKOVÁ, 2004).

Para garantir a segurança e eficácia dos fármacos quirais, a avaliação da sua composição estereoquímica envolve o controle de qualidade da mistura racêmica e dos enantiômeros isolados, através de técnicas de separação e quantificação, como por exemplo a cromatografia líquida de alta eficiência quiral em que são utilizadas fases estacionárias quirais e seletores quirais adicionados a fase móvel (AHUJA, 2008; BERTHOD, 2010; MAIER, FRANCO e LINDNER, 2001).

3.4 Baclofeno

O fármaco baclofeno (Figura 2) é um derivado do neurotransmissor inibitório mais abundante do sistema nervoso central de mamíferos, o ácido gama-aminobutírico (GABA). Foi descoberto em 1962, aprovado pelo *Food and Drugs Administration* (FDA) em 1977 e é utilizado como relaxante muscular de ação central, pois atua como agonista seletivo dos receptores GABA_B (DRUGBANK, 2022; KENT, PARK e LINDSLEY, 2020).

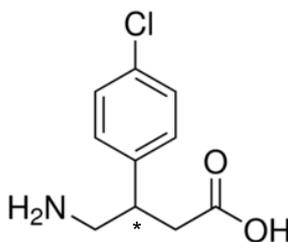


Figura 2 - Estrutura molecular do (R,S)-baclofeno (DRUGBANK, 2022).

Permanece como fármaco de escolha para o tratamento de espasticidade, caracterizada pela rigidez excessiva e/ou espasmos nos músculos que podem ocorrer em várias condições em adultos e crianças, tais como a esclerose múltipla, doenças ou lesões na medula óssea e lesões cerebrais, como paralisia cerebral e acidente vascular cerebral. O baclofeno promove a redução e o alívio desta condição (DRUGBANK, 2022; KENT, PARK e LINDSLEY, 2020; PUBCHEM, 2022). O baclofeno é um antispástico de ação medular. Ele deprime a transmissão do reflexo monossináptico e polissináptico através da estimulação dos receptores GABA-B. Esta estimulação, por sua vez, inibe a liberação dos aminoácidos excitatórios, glutamato e aspartato, promovendo o relaxamento muscular (DRUGBANK, 2022; PUBCHEM, 2022).

No Brasil, o medicamento referência, denominado Lioresal[®], é comercializado sob a forma de comprimidos orais contendo a mistura racêmica de baclofeno, na dose de 10 mg (NOVARTIS, 2021). Atualmente, o baclofeno é prescrito para uma série de condições, incluindo espasticidade espinhal, espasticidade crônica, espasticidade cerebral, espasmos musculares, distonia cervical, abstinência de álcool, prevenção da enxaqueca, neuralgia, entre outros, sendo também bastante

prescrito em âmbito hospitalar (KENT, PARK e LINDSLEY, 2020; SANTOS e HEINECK, 2011).

O baclofeno apresenta-se como um pó cristalino branco a quase branco, inodoro ou praticamente inodoro e possui as seguintes propriedades:

- Nome químico: (*RS*)-Ácido 4-amino-3-(4-clorofenil) butanóico
- Registro no *Chemical Abstracts Service* (CAS): 1134-47-0
- Fórmula molecular: C₁₀H₁₂ClNO₂
- Massa molecular: 213,66 g/mol
- pKa: 3,89 (grupo carboxila) e 9,79 (grupo amina)
- Solubilidade: ligeiramente solúvel em água, muito ligeiramente solúvel em etanol e metanol, praticamente insolúvel em acetona e clorofórmio.
- Faixa de Fusão: 206 a 208 °C
- Ponto de Fusão: 207 °C (BP, 2014; BUDAVARI, 1996; DRUGBANK, 2022; JP 17, 2016; NOVARTIS, 2013; PUBCHEM, 2022; USP 45, 2022).

Em relação aos métodos farmacopeicos, o baclofeno encontra-se presente na Farmacopeia Americana (USP), na Farmacopeia Britânica (BP) e na Farmacopeia Japonesa (JP). Nestes compêndios, os métodos propostos por CLAE para doseamento do fármaco envolvem reagentes de pareamento iônico e modo de eluição gradiente, refletindo em aumento de custo e tempo de análise (BP, 2014; JP 17, 2016; USP 45, 2022). Na literatura científica constam alguns estudos de desenvolvimento e validação de metodologia por CLAE para quantificação de baclofeno em formas farmacêuticas líquidas ou sólidas, descritos na Tabela 1.

Tabela 1 – Estudos de desenvolvimento e validação de metodologia para quantificação de baclofeno por CLAE.

Coluna	Fase Móvel	Vazão (mL/min)	T _R (minutos)	Referência
Phenomenex Luna [®] C ₁₈ (250 mm x 4,6 mm x 5 µm) + pré-coluna Eclipse XBD-C18 4-Pack (4,6 mm x 12,5 mm x 5 µm)	ACN:Trietilamina 10 mM pH 9,5 (modo gradiente, ACN 10 a 30% em 10 minutos)	0,8	7,53	DUKOVA <i>et al.</i> , 2015
Phenomenex Luna [®] C ₁₈ (250 mm x 4,6 mm x 5 µm) + pré-coluna Phenomenex (4,0 mm x 3,0 mm x 5 µm)	ACN:fosfato de sódio monobásico 0,05 M pH 3,5 (20:80)	1,5	NC	FERREIRA <i>et al.</i> , 2017
Phenomenex Luna [®] C ₁₈ (150 mm x 4,6 mm x 5µm)	Trietilamina 10 mM pH 7,0:metanol:acetonitrila (80:15:5)	1,0	6,2	SANTOS <i>et al.</i> , 2018

Nota: Em todos os estudos supracitados, a detecção foi realizada à 220 nm. **ACN:** Acetonitrila; **T_R:** Tempo de retenção; **NC:** não consta.

Conforme apresentado na Figura 2, o baclofeno apresenta um centro quiral. O enantiômero (*R*)-baclofeno é considerado 100 vezes mais ativo que o (*S*)-baclofeno e apresenta atividade estereoespecífica sobre os receptores GABA_B. Além disso, o (*S*)-baclofeno apresenta interferência nos sítios de ligação do enantiômero (*R*) (ALI *et al.*, 2017; BATRA e BHUSHAN, 2017). A verificação da proporção dos enantiômeros componentes do racemato é fator imprescindível na avaliação da estabilidade do baclofeno em formulações, visto a possibilidade de ocorrência de inversão quiral e conseqüente perda ou diminuição de sua eficácia. Em consideração a importância medicinal e aplicações clínicas do baclofeno, além das diferenças na toxicidade e farmacocinética de seus enantiômeros, o interesse na análise enantiosseletiva deste fármaco é crescente. Neste sentido, Batra e Bhushan (2017) realizaram uma revisão da literatura científica em que avaliaram diferentes métodos de enantioseparação do (*RS*)-baclofeno usando abordagens diretas e indiretas, a aplicação de reagentes quirais e fases estacionárias quirais. Zhu e Neirinck (2003) desenvolveram um método por CLAE quiral para determinação dos enantiômeros de baclofeno em plasma humano utilizando uma coluna cromatográfica Phenomenex Chirex[®] 3216 (150 mm x 4,6 mm x 5 µm), com fase estacionária quiral composta por D-penicilamina. Utilizando uma coluna cromatográfica de fase estacionária quiral, Kromasil[®] Amycoat-RP (150 mm x 4,6 mm x 5 µm), composta por derivado de amilose (amilose tris(3,5-dimetilfenilcarbamato), Ali e colaboradores (2017) desenvolveram método para separação dos enantiômeros do baclofeno. Esta coluna cromatográfica foi a mesma utilizada por Ali e colaboradores (2018) para obter a resolução entre (*R*)-baclofeno e (*S*)-baclofeno em amostras de plasma humano. Goda e colaboradores (2004) obtiveram sucesso na completa resolução dos enantiômeros de baclofeno com o uso de uma coluna cromatográfica de fase estacionária quiral composta por éter coroa, Daicel Crownpak CR (+)[®] (150 mm x 4,0 mm x 5 µm), em amostras de plasma humano e fluido cérebro-espinhal.

Além da forma farmacêutica comprimidos, o baclofeno é também comercializado na forma líquida para uso oral nos Estados Unidos e Reino Unido na concentração de 5 mg/5 mL e as formulações são compostas por excipientes como glicerina, propilenoglicol, metilparabeno, propilparabeno, sorbitol, hidroxietilcelulose, ácido cítrico, sucralose, entre outros (NOVARTIS, 2019; METACEL

PHARMACEUTICALS, 2020). No Brasil, a indisponibilidade da forma farmacêutica líquida levou a utilização do mesmo *off-label* no ambiente hospitalar para pacientes pediátricos e pacientes adultos com dificuldade de deglutição ou sob utilização de sondas para alimentação, em que são preparadas derivações a partir dos comprimidos de Lioresal[®], com escassez de dados sobre a estabilidade e segurança destas preparações extemporâneas (MARINHO e CABRAL, 2014; SANTOS e HEINECK, 2011).

Os estudos disponíveis na literatura envolvendo o fármaco baclofeno em preparações são escassos e alguns bastante antigos. Johnson e Hart (1993) avaliaram a estabilidade físico-química de suspensões preparadas a partir da trituração de comprimidos contendo baclofeno, adicionando glicerina como agente levigante e xarope simples como veículo. As preparações armazenadas em vidro âmbar, no escuro e sob refrigeração à 4 °C permaneceram estáveis pelo período de 35 dias. Allen e Erickson (1996) verificaram a estabilidade físico-química por 60 dias de três preparações líquidas obtidas através da trituração de comprimidos contendo baclofeno adicionados às seguintes misturas de veículos: Ora Sweet[®] e Ora Plus[®] 1:1, Ora Sweet SF[®] e Ora Plus[®] 1:1 e Xarope de Cereja e Xarope Simples 1:4. As preparações foram armazenadas em frascos plásticos âmbar, no escuro, a 5 °C e 25°C e permaneceram estáveis durante todo o período avaliado. Purohit e colaboradores (2021) observaram a estabilidade físico-química de duas preparações contendo baclofeno utilizando os veículos suspensores Ora-Blend[®] e Ora-Blend Sugar Free[®], armazenadas a 2 a 8°C e a 25°C por 30 dias. Ferreira e colaboradores (2017) avaliaram a estabilidade físico-química de suspensões contendo baclofeno incorporado ao agente suspensor pronto para uso SyrSpend[®] SF PH4 na concentração de 10,0 mg/mL, permanecendo estáveis por 90 dias quando armazenadas sob refrigeração e a temperatura ambiente, em frascos de vidro âmbar. Polonini e colaboradores (2018) analisaram suspensões contendo baclofeno a 2,0 mg/mL disperso no agente suspensor pronto para uso SyrSpend[®] SF PH4 e observaram a estabilidade do teor do fármaco nas formulações até 90 dias, quando armazenadas de 2 a 8 °C. Na maioria destes estudos avaliou-se somente o teor de baclofeno, sem considerar o comportamento do pH e viscosidade, bem como a estabilidade microbiológica e quiral das preparações.

É notável a escassez de estudos envolvendo o desenvolvimento de formulações orais líquidas contendo baclofeno e a avaliação da estabilidade físico-química, microbiológica e quiral das mesmas. Em virtude do exposto acima e devido às diferenças de potência entre os enantiômeros do fármaco, o que pode originar distinção farmacocinética, farmacodinâmica e farmacológica, buscou-se desenvolver e avaliar a estabilidade de formulações orais líquidas contendo baclofeno para uso hospitalar. As informações obtidas neste trabalho fornecerão um aporte de dados sobre formulações contendo baclofeno acrescidas de seus dados de estabilidade, contribuindo para a rotina da Farmácia Semi-industrial do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e de outro hospital, além de atender uma demanda real referente à administração deste fármaco em pacientes pediátricos e em pacientes adultos com dificuldade de deglutição ou usuários de sondas de alimentação.

4. CAPÍTULO I: CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA BACLOFENO

4. CAPÍTULO I: CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA BACLOFENO

4.1 INTRODUÇÃO

Uma das etapas iniciais do controle de qualidade de formulações compreende a caracterização do(s) insumo(s) integrante(s) da mesma, fator que interfere diretamente na confiabilidade dos resultados a serem obtidos no desenvolvimento farmacêutico, visto a diversidade de procedência do(s) mesmo(s) (YAMAMOTO *et al.*, 2004).

Diversas são as técnicas analíticas disponíveis para identificação e caracterização de insumos, variando conforme sua acessibilidade, complexidade e custo. Devido a inexistência de um único método para tal, preconiza-se a análise de insumos através de um conjunto de técnicas, as quais fornecem informações distintas e complementares sobre cada insumo avaliado e são confrontadas com as especificações determinadas nas farmacopeias (CHIENGA *et al.*, 2011; OLIVEIRA, YOSHIDA e GOMES, 2011).

Em vista disso, este capítulo aborda a análise qualitativa da matéria-prima baclofeno, através da sua caracterização utilizando as técnicas apresentadas a seguir, com o objetivo de confirmar a identidade da mesma.

4.2 MATERIAIS

A matéria-prima baclofeno, identificada pelo lote BLF21003, teor declarado de 100,14% e procedência da Índia, foi fornecida pela empresa Infinity Pharma® (São Paulo, Brasil). A substância química de referência (SQR) do baclofeno, com teor de pureza de 99,4%, identificada pelo lote nº J1H297, foi adquirida da USP por intermédio da empresa Sigma-Aldrich® do Brasil.

A água ultrapura utilizada no preparo das soluções foi produzida no Laboratório de Controle de Qualidade Farmacêutico (LCQFar), da Faculdade de Farmácia da UFRGS, através de sistema de purificação de água, marca Millipore, modelo Direct-Q 3 UV (Darmstadt, Alemanha).

4.3 MÉTODO

Foram utilizadas as seguintes técnicas para caracterização da matéria-prima: espectrofotometria na região do ultravioleta (UV), faixa de fusão utilizando microscópio de ponto de fusão tipo Kofler, análise térmica por calorimetria exploratória diferencial (DSC) e espectrometria de massas (MS).

4.3.1 Espectrofotometria na Região do Ultravioleta (UV)

A identificação de fármacos por UV é realizada através da comparação do espectro obtido para a solução amostra com o espectro obtido para a solução padrão de referência do mesmo fármaco, em uma concentração estabelecida, identificando os comprimentos de onda máximos e mínimos de absorção. O fundamento da técnica baseia-se na absorção de energia eletromagnética por moléculas, relacionada a estrutura das mesmas, em uma faixa de comprimento de onda de 190 a 380 nm, onde as transições são eletrônicas e ocorrem em porções da molécula chamadas de cromóforos. A simplicidade, rapidez e baixo custo da técnica ainda fazem dessa uma interessante ferramenta de identificação (FB 6, 2019; WATSON, 2012).

As análises por UV foram realizadas no Laboratório de Controle Qualidade Farmacêutico da Faculdade de Farmácia da UFRGS, utilizando espectrofotômetro UV-Vis Shimadzu®, modelo 1800 de feixe duplo e empregando cubetas de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico. O software UVProbe versão 2.42 foi utilizado para aquisição dos dados. Os espectros de absorção obtidos foram analisados na faixa de 200 a 400 nm, utilizando como branco o solvente utilizado no preparo das amostras. As soluções de baclofeno SQR e de baclofeno matéria-prima foram preparadas em água ultrapura na concentração de 50,0 µg/mL.

4.3.1.1 Resultados e Discussão

Na Figura 3 constam os espectros UV sobrepostos das soluções de baclofeno SQR e de baclofeno matéria-prima.

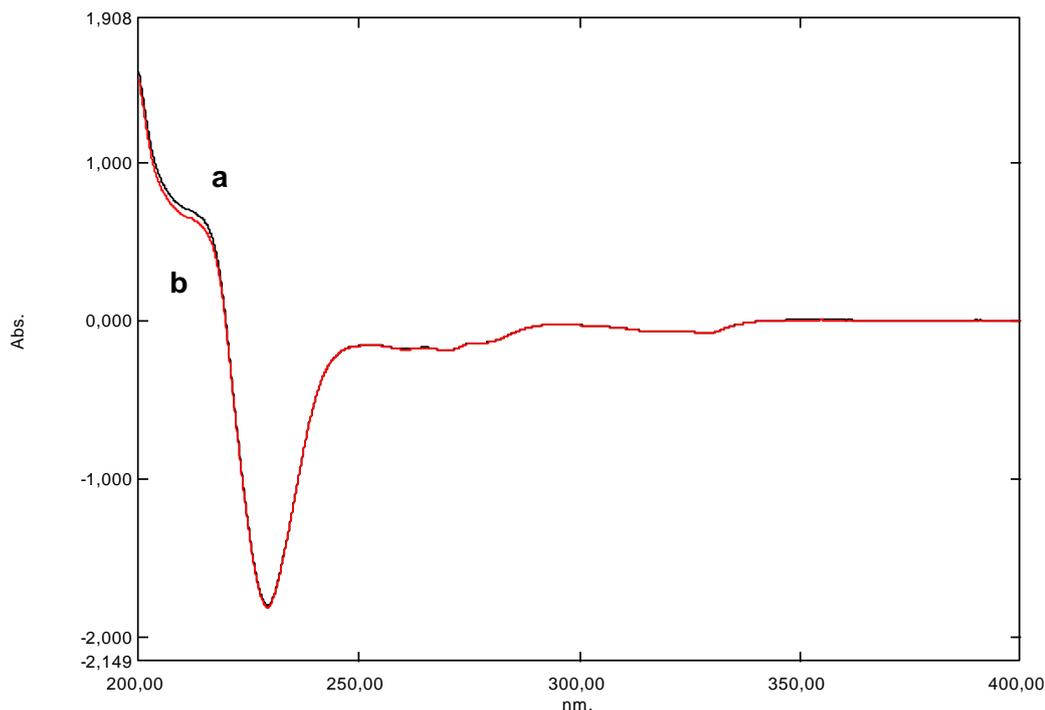


Figura 3 - Espectros sobrepostos na região do UV da **(a)** solução de baclofeno SQR e da **(b)** solução de baclofeno matéria-prima a 50,0 µg/mL em água ultrapura.

Os espectros na região do UV na faixa de 200 a 400 nm, obtidos para as soluções de baclofeno SQR e baclofeno matéria-prima apresentaram os mesmos perfis e máximos de absorção em 220 nm.

4.3.2 Faixa de Fusão

As análises do baclofeno matéria-prima foram realizadas em equipamento de ponto de fusão tipo Kofler, marca Wagner & Muniz, localizado no Laboratório de Química Farmacêutica da Faculdade de Farmácia da UFRGS. Colocou-se uma pequena quantidade da matéria-prima sobre lâmina de vidro e acomodou-se a lamínula sobre a amostra. A lâmina manteve-se em aquecimento gradual em chapa metálica até completa fusão do insumo, a qual foi observada por meio do microscópio.

4.3.2.1 Resultados e Discussão

A faixa de fusão média foi de 204,0 a 208,0 °C (n=3) para o baclofeno, semelhante à referenciada na literatura (BUDAVARI, 1996; PUBCHEM, 2022). Os

resultados demonstraram a adequabilidade do método utilizando o equipamento tipo Kofler para determinação da faixa de fusão do fármaco em questão.

4.3.3 Análise Térmica por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A análise térmica por DSC possibilita a medição da diferença de fluxo de calor entre uma substância e um material de referência em função da temperatura e/ou tempo de aquecimento sob um programa controlado de aquecimento ou resfriamento. Na área farmacêutica é utilizada na caracterização, na determinação da pureza e umidade de fármacos, estudos de compatibilidade entre os constituintes da formulação, na identificação de polimorfismos e em estudos de cinética de degradação (FB 6, 2019; OLIVEIRA, YOSHIDA e GOMES, 2011).

A análise do baclofeno matéria-prima foi realizada em calorímetro exploratório diferencial por fluxo de calor, Shimadzu DSC-60, com rampa de aquecimento de 10 °C/min, fluxo de nitrogênio de 50 mL/min e *software* TA-60 Analysis para aquisição de dados. Para realizar o ensaio, transferiu-se aproximadamente 1,0 mg da matéria-prima para porta-amostra de alumínio, o qual foi selado e inserido no forno do calorímetro exploratório diferencial. Um porta-amostra de alumínio vazio e selado foi utilizado como referência. A análise foi realizada em equipamento instalado no Centro de Tecnologia Farmacêutica da Faculdade de Farmácia da UFRGS.

4.3.3.1 Resultados e Discussão

A Figura 4 apresenta a curva de aquecimento obtida por DSC para a matéria-prima baclofeno.

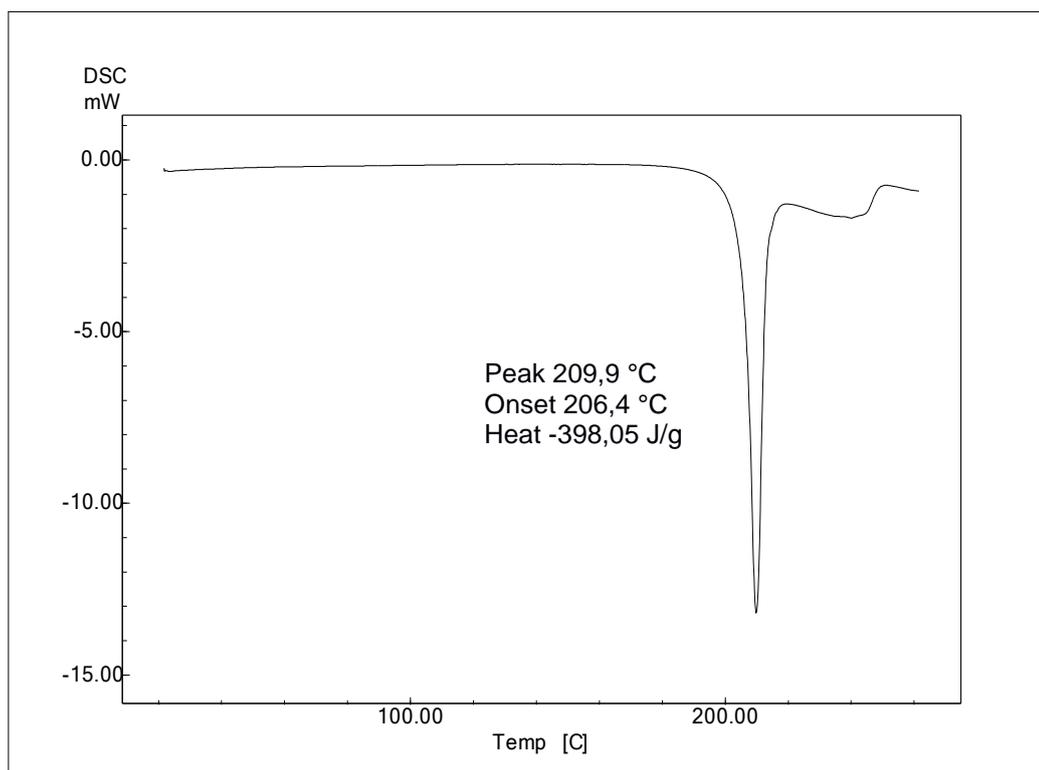


Figura 4 – Curva de aquecimento obtida por DSC para a matéria-prima baclofeno em fluxo de nitrogênio de 50 mL/min e taxa de aquecimento de 10 °C/minuto.

Conforme a curva de aquecimento acima, verificou-se um evento endotérmico característico de fusão que apresentou-se em 209,9 °C, estando próximo a faixa de fusão do baclofeno de 206 a 208 °C (BP, 2014; DRUGBANK, 2022; JP 17, 2016; PUBCHEM, 2022; USP 45, 2022). Sendo assim, o DSC pode ser considerado uma ferramenta adequada para determinação da faixa de fusão desta amostra.

4.3.4 Espectrometria de Massas (MS)

A espectrometria de massas é uma técnica que fornece informações do peso molecular e de características estruturais das substâncias. O equipamento utilizado é composto por fonte de ionização, analisadores de massa e detector, de forma que após o processo de ionização, os íons resultantes são separados conforme sua relação massa/carga (m/z) e detectados na forma de um espectro (SILVERSTEIN, WEBSTER e KIEMLE, 2005).

O espectro de massas do fármaco baclofeno foi obtido por espectrômetro de massas micrOTOF-Q III (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha), equipado com

interface de *eletrospray* (ESI) e operando em modo positivo. Os seguintes parâmetros foram utilizados: voltagem do capilar de 4,5 kV, temperatura do gás de secagem de 200 °C, fluxo do gás de secagem de 4 L/minuto e pressão do gás de nebulização de 0,4 bar. A detecção foi realizada considerando uma faixa de massa de 20 a 1000 m/z, com taxa de aquisição de 1,00 Hz. O nitrogênio foi utilizado como gás de secagem e de nebulização. O espectrômetro de massas foi calibrado com uma solução de formato de sódio (10 mM) em modo positivo e os dados foram processados usando o *software* Data Analysis 4.3 (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha).

A solução de baclofeno matéria-prima foi preparada em água ultrapura na concentração de 50,0 µg/mL e analisada no equipamento descrito acima, localizado na Central Analítica da Faculdade de Farmácia da UFCSPA.

4.3.4.1 Resultados e Discussão

O espectro de massas do baclofeno está apresentado na Figura 5.

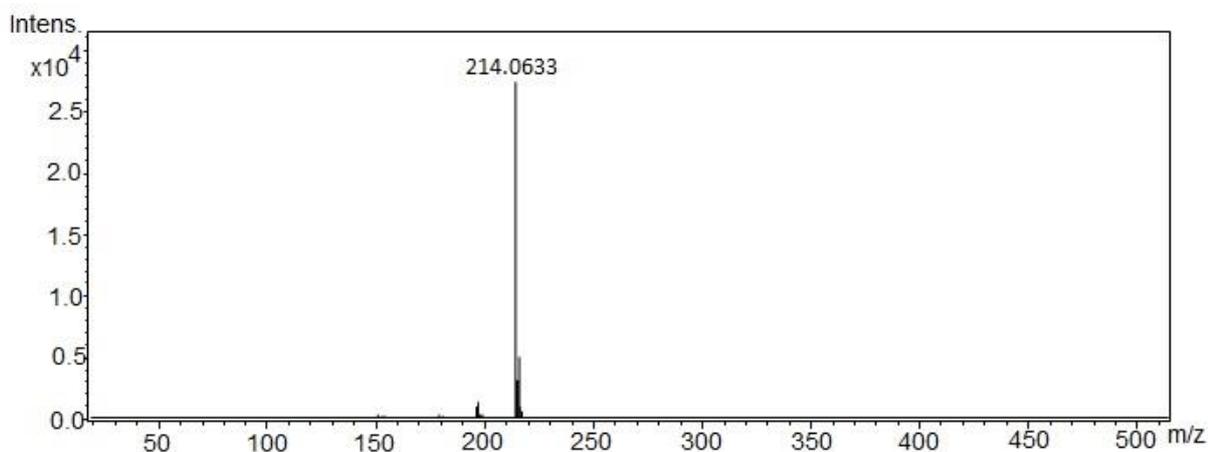


Figura 5 - Espectro de massas da matéria-prima baclofeno a 50,0 µg/mL em água ultrapura.

O espectro de massas do baclofeno matéria-prima apresentou o íon de m/z 214,0633, referente à molécula protonada $[M+H]^+$ de baclofeno.

4.4 CONCLUSÕES

Considerando o conjunto de análises de caracterização realizadas, a matéria-prima do fármaco baclofeno demonstrou-se adequada para os estudos realizados e descritos neste trabalho.

**5. CAPÍTULO II: DESENVOLVIMENTO, OTIMIZAÇÃO BASEADA NA
ABORDAGEM *QUALITY BY DESIGN* E AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE
FORMULAÇÕES ORAIS LÍQUIDAS CONTENDO BACLOFENO PARA USO
HOSPITALAR**

5. CAPÍTULO II: DESENVOLVIMENTO, OTIMIZAÇÃO BASEADA NA ABORDAGEM *QUALITY BY DESIGN* E AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE FORMULAÇÕES ORAIS LÍQUIDAS CONTENDO BACLOFENO PARA USO HOSPITALAR

5.1 INTRODUÇÃO

A maioria dos medicamentos comercializados encontram-se sob a forma farmacêutica sólida de uso oral, não dispondo da apresentação líquida. Esta questão constitui um problema de saúde pública devido à dificuldade de administração destes medicamentos em pacientes pediátricos e em pacientes adultos com disfagia ou que estão sob o uso de sondas para alimentação, para os quais as formas farmacêuticas líquidas de uso oral são as mais adequadas. No contexto hospitalar, a falta de formulações apropriadas para esses pacientes resulta no desenvolvimento de estratégias de adaptação de tais medicamentos, como o preparo de derivações a partir de formas farmacêuticas sólidas, em que o conteúdo de cápsulas ou comprimidos triturados são dispersos ou dissolvidos em determinados veículos para serem administrados. Tais preparações, em sua maioria, não dispõem de informações sobre sua estabilidade, segurança e eficácia, podendo comprometer o tratamento e a saúde dos pacientes (COSTA, LIMA e COELHO, 2009; CRAM *et al.*, 2009; FERREIRA *et al.*, 2012; HAYWOOD e GLASS, 2013; HEINECK, BUENO e HEYDRICH, 2009; MAGALHÃES *et al.*, 2015; STANDING e TULEU, 2005).

Como etapa preliminar do desenvolvimento de uma formulação líquida de uso oral são necessários estudos de pré-formulação, cujo principal objetivo é reunir o máximo de informações a respeito do(s) fármaco(s) e excipiente(s) pré-selecionados para veiculá-los. Nesta etapa é realizada uma investigação das propriedades físico-químicas dos mesmos, desempenhando um significativo papel na antecipação de problemas de formulação, o que é revertido em ganho de tempo, custo e na maior garantia em relação a qualidade, segurança e eficácia do produto final (GAISFORD, 2016; GIBSON, 2009). A técnica de *quality by design* (QbD) é uma alternativa para auxiliar o desenvolvimento farmacêutico baseada em conhecimento e dados estatísticos para obtenção de uma região multidimensional de espaço experimental, através da análise de riscos, avaliação multifatorial e melhoria contínua, que

direcionam para formulações e processos mais adequados, promovendo a redução do número de experimentos e o conhecimento profundo do produto e processo em desenvolvimento. Uma das principais etapas do QbD consiste na aplicação do delineamento experimental, o qual promove um direcionamento na escolha dos excipientes a serem utilizados e suas concentrações de uso, bem como de seus impactos nos parâmetros do processo produtivo (CAVAZZUTI, 2013; FUKUDA *et al.*, 2018; GRANGEIA *et al.*, 2020; YU, 2008; YU *et al.*, 2014). Estudos de estabilidade são necessários para avaliar as formulações líquidas a serem desenvolvidas em relação às suas propriedades físico-químicas e microbiológicas, visto a elevada suscetibilidade à instabilidade destes tipos de preparações. As formulações devem ser submetidas a diferentes condições de temperatura e umidade a fim de verificar seu comportamento ao longo de um período e determinar as condições de armazenamento e embalagem mais adequadas (BRAZIL, 2019; LEITE, 2005; O'DONNELL e BOKSER, 2013).

O fármaco baclofeno é um relaxante muscular de ação central considerado de escolha para o tratamento de espasticidade caracterizada por rigidez excessiva e/ou espasmos musculares que ocorrem em diversas condições. No Brasil é comercializado somente na forma de comprimidos de uso oral, o que dificulta a administração em pacientes pediátricos e pacientes adultos com dificuldade de deglutição ou entubados, internados em ambiente hospitalar (DRUGBANK, 2022; KENT, PARK e LINDSLEY, 2020; NOVARTIS, 2021; PUBCHEM, 2022). A necessidade de uma forma farmacêutica líquida de uso oral contendo baclofeno é uma demanda real do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Assim, buscou-se desenvolver duas formulações orais líquidas contendo baclofeno para contribuir com a rotina do serviço de farmácia hospitalar e viabilizar a administração do mesmo.

Desta forma, este capítulo aborda a realização de estudos de pré-formulação para o desenvolvimento de duas formulações orais líquidas contendo o fármaco baclofeno, a aplicação da metodologia QbD e, desta forma, do delineamento experimental para o direcionamento aos excipientes mais adequados a serem utilizados neste desenvolvimento, bem como da concentração de uso dos mesmos e seu impacto nas especificações do produto final, o desenvolvimento e validação de método analítico por CLAE para análise das formulações desenvolvidas e a realização de estudos de estabilidade físico-química e microbiológica das mesmas.

O trabalho está disposto no formato de artigo científico de acordo com o periódico ao qual foi submetido e publicado em 16/11/2022. A metodologia e os resultados detalhados, além da discussão referente ao desenvolvimento e validação analíticos por CLAE estão descritos na íntegra no Capítulo III deste trabalho.

5.2 ARTIGO CIENTÍFICO: Development, Quality by Design-based Optimization, and Stability Assessment of Oral Liquid Formulations Containing Baclofen for Hospital Use

AAPS PharmSciTech (2022) 23:301

DOI 10.1208/s12249-022-02447-x

O texto completo da tese defendida que ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 71 a 117 foi suprimido por tratar-se de artigo publicado no periódico AAPS PharmSciTech em 16/11/2022.

**6. CAPÍTULO III: DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA
ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE BACLOFENO E SEUS
ENANTIÔMEROS EM FORMULAÇÕES ORAIS LÍQUIDAS**

6. CAPÍTULO III: DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE BACLOFENO E SEUS ENANTIÔMEROS EM FORMULAÇÕES ORAIS LÍQUIDAS

6.1 INTRODUÇÃO

Uma ampla variedade de metodologias analíticas para determinações qualitativas e quantitativas de fármacos estão estabelecidas nos compêndios oficiais, tanto para matérias-primas quanto para produtos farmacêuticos, bem como os requisitos especificados para tal. Neste estudo, a técnica selecionada para o doseamento do fármaco baclofeno e seus enantiômeros nas formulações orais líquidas desenvolvidas foi a cromatografia líquida de alta eficiência por possibilitar o desenvolvimento de métodos sensíveis e robustos, com adequada resolução e seletividade (KAZAKEVICH e LOBRUTTO, 2007; VIDUSHI e MEENAKSHI, 2017). Na literatura científica constam estudos de desenvolvimento e validação de métodos analíticos para a análise de baclofeno e seus enantiômeros por CLAE aquiral e quirai, respectivamente, os quais foram exemplificados na revisão bibliográfica deste trabalho.

Conforme definição estabelecida na RDC nº 166 de 24/07/2017 da ANVISA, “a validação analítica é a avaliação sistemática de um método por meio de ensaios experimentais de modo a confirmar e fornecer evidências objetivas de que os requisitos específicos para seu uso pretendido são atendidos”. Assim, a validação deve demonstrar, de forma documentada e mediante critérios objetivos, que o método analítico produz resultados confiáveis e é adequado à finalidade a que se destina (BRASIL, 2017b; ICH, 2005).

Em relação aos fármacos quirais que apresentam-se como misturas racêmicas, considerando a possibilidade de diferenças entre os enantiômeros em sua farmacodinâmica e farmacocinética, e conseqüente distinção quanto a sua ação, potência e toxicidade, o controle de qualidade estereoquímico faz-se necessário para garantia da segurança e eficácia dos mesmos e é uma exigência regulatória (AHUJA, 2011; BERTHOD, 2010; SOLOMONS e FRYHLE, 2012). Tal exigência está relacionada às características do insumo farmacêutico ativo (IFA) quando do registro, renovação de registro ou alteração pós-registro de radiofármacos,

medicamentos novos, específicos, similares e genéricos (BRASIL, 2007b, 2007c, 2009a, 2009b, 2011, 2014a, 2016a e 2016b). É crescente a variedade de técnicas analíticas para tal e a cromatografia líquida de alta eficiência tem ampla utilização, seja pela aplicação de fases estacionárias quirais ou seletos quirais adicionados à fase móvel, obtendo-se métodos de alta sensibilidade, precisão e reprodutibilidade (CAVAZZINI *et al.*, 2011). O fármaco baclofeno é comercializado na sua forma racêmica, sendo que o enantiômero (*R*)-baclofeno é considerado 100 vezes mais ativo que o (*S*)-baclofeno (ALI *et al.*, 2017; BATRA e BHUSHAN, 2017). Verificar a proporção dos componentes do racemato é de extrema relevância para a avaliação da estabilidade deste fármaco em formulações, pois a inversão quiral do enantiômero (*R*)-baclofeno no (*S*)-baclofeno poderia afetar a eficácia das mesmas.

Neste capítulo são abordados os estudos para desenvolvimento e validação da metodologia analítica por CLAE aquiral e quiral, com detecção espectrofotométrica na região do ultravioleta, para determinação do fármaco baclofeno e separação e quantificação dos enantiômeros (*R*)-baclofeno e (*S*)-baclofeno, nas formulações orais líquidas desenvolvidas e descritas no Capítulo II deste trabalho, bem como a avaliação da estabilidade quiral das mesmas através da ocorrência ou não do fenômeno de inversão quiral.

O texto completo da tese defendida que ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 122 a 158 foi suprimido por tratar-se de dados que fazem parte de artigo publicado no periódico AAPS PharmSciTech em 16/11/2022 e dados de manuscrito em preparação a ser submetido à publicação.

7. DISCUSSÃO GERAL

A carência da forma farmacêutica líquida de uso oral no mercado nacional para alguns medicamentos dificulta sua administração em pacientes pediátricos e adultos com dificuldade de deglutição ou que se encontram sob uso de sondas para alimentar-se. Esta problemática é crítica no contexto hospitalar por ocasionar o uso de medicamentos sob a forma não licenciada ou não padronizada, em geral, através do preparo de derivações das formas farmacêuticas sólidas em preparações extemporâneas líquidas (COSTA, LIMA e COELHO, 2009; HAYWOOD e GLASS, 2013; SANTOS e HEINECK, 2011). Estas devem ser utilizadas em curto espaço de tempo após seu preparo, conforme diretrizes estabelecidas pela ANVISA e, na maioria das vezes, não dispõem de dados científicos sobre sua estabilidade, segurança e eficácia (BRASIL, 2007a).

Alguns estudos evidenciam a significativa prevalência de prescrições no ambiente hospitalar nacional e internacional de medicamentos na forma líquida que não possuem esta apresentação disponível, sendo considerado um problema de saúde mundial (CARVALHO *et al.*, 2003; COSTA, LIMA e COELHO, 2009; DELL'AERA *et al.*, 2007; DI PAOLO *et al.*, 2006; FERREIRA *et al.*, 2012; HEINECK, BUENO e HEYDRICH, 2009; LASS *et al.*, 2011; MAGALHÃES *et al.*, 2015). Estas lacunas evidenciam a necessidade de desenvolvimentos farmacêuticos contínuos para atendimento integral de prescrições médicas, visando produtos adequados a via de uso pretendida, estáveis, seguros e eficazes.

O fármaco baclofeno é comercializado no Brasil somente na forma de comprimidos de uso oral e, segundo Santos e Heineck (2011) compreendeu aproximadamente 18,9% das preparações extemporâneas dentre 323 prescrições avaliadas em estudo realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Visando tais informações, no presente trabalho foi realizado o desenvolvimento de formulações orais líquidas contendo a matéria-prima do fármaco baclofeno, sendo destinadas a pacientes pediátricos e pacientes adultos com dificuldade de deglutição ou sob uso de sondas para alimentação, internados em ambiente hospitalar. Foram desenvolvidas duas versões de formulação, uma contendo xarope simples como veículo e a outra contendo solução de carboximetilcelulose sódica, mais adequada

para pacientes que possuem alguma restrição à sacarose ou ingestão calórica (ROWE, SHESKEY e QUINN, 2009).

Para este desenvolvimento realizou-se a caracterização da matéria-prima do fármaco baclofeno através das técnicas de UV, faixa de fusão, DSC e MS, as quais garantiram a identidade do insumo e originaram maior confiabilidade aos resultados obtidos neste trabalho.

Os estudos de pré-formulação compreendem a etapa do desenvolvimento farmacêutico que precede a formulação propriamente dita. Fornecem a base de conhecimento fundamental sobre as características do fármaco e excipientes para veiculá-lo, bem como sobre o desenho da forma farmacêutica a ser obtida, reduzindo tempo e custos com o desenvolvimento (GAISFORD, 2016). Neste trabalho, os estudos de pré-formulação e a avaliação de sua pré-estabilidade deram um direcionamento inicial para os excipientes e processo produtivo a serem utilizados no desenvolvimento das formulações orais líquidas contendo baclofeno, bem como para as especificações necessárias para obtenção das mesmas. Os dados obtidos foram avaliados aplicando-se a metodologia de *quality by design* através de desenhos experimentais de varredura e otimização, com o objetivo de auxiliar na escolha dos excipientes e suas concentrações e promover uma orientação mais precisa sobre os impactos dos componentes nas formulações, bem como aquela de maior probabilidade em atender os requisitos pré-determinados, contendo xarope simples ou solução de carboximetilcelulose sódica como veículo.

Na etapa de varredura foram manipuladas onze pré-formulações resultantes do modelo experimental proposto. Em estudo de estabilidade preliminar por 28 dias, todas as pré-formulações apresentaram aspecto, cor e odor estáveis, além de promover a ressuspensão do fármaco após agitação e manutenção do mesmo disperso no meio, durante todo o tempo do estudo. Tal característica de suspendabilidade é desejável para a forma farmacêutica suspensão, pois proporciona uniformidade na dose administrada. Porém, consiste em um desafio no desenvolvimento farmacêutico, pois requer equilíbrio entre a viscosidade e a velocidade de sedimentação da formulação (BARKER, 2016). Os valores de pH permaneceram dentro faixa determinada e conforme recomendações da literatura (FERREIRA e SOUZA, 2005; USP 45, 2022), enquanto a viscosidade apresentou variações que excederam os limites especificados. Portanto, para a etapa de

otimização do estudo de QbD, este atributo crítico da qualidade foi revisto. A etapa de varredura do QbD permitiu avaliar de forma prévia e mais abrangente o impacto dos parâmetros críticos do processo nos atributos críticos da qualidade previamente estabelecidos para as formulações desejadas. Forneceu subsídios para a etapa seguinte de otimização, em que foi realizado um refinamento dos CQAs e ajustes nos CPPs para obter a indicação da condição experimental ideal. Estas pré-formulações foram submetidas a estudo de estabilidade preliminar por 28 dias e as respostas aos parâmetros avaliados de aspecto, cor, odor, pH, viscosidade e volume de sedimentação, mantiveram-se de acordo com os limites especificados. O desenho experimental de varredura conduziu para a Formulação XS, contendo xarope simples como veículo, enquanto o de otimização apontou para a Formulação CMC, com solução de CMCNa como veículo.

A aplicação da abordagem QbD permitiu a realização de um número reduzido de experimentos, inter-relacionando todas as variáveis estudadas e seu impacto na qualidade das formulações propostas com confiabilidade. A otimização no tempo de desenvolvimento farmacêutico compreende um dos benefícios desta técnica, além de promover maior conhecimento das características e do comportamento da formulação e de seus componentes, visando o aumento da estabilidade e reprodutibilidade do produto final para que não-conformidades futuras sejam evitadas (FUKUDA *et al.*, 2018; GRANGEIA *et al.*, 2020; KOURTI e DAVIS, 2012).

O método analítico indicativo de estabilidade, desenvolvido por CLAE aquiral para quantificar o fármaco nas formulações propostas, demonstrou seletividade, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, precisão, exatidão e robustez. Todos os parâmetros avaliados apresentaram valores conforme os limites preconizados em guias destinados a tal (BRASIL, 2017b; ICH, 2005). O método por CLAE quiral para separação e quantificação dos enantiômeros (*R*)-baclofeno e (*S*)-baclofeno foi desenvolvido, sendo necessária sua posterior validação. Ambas as metodologias foram utilizadas na avaliação da estabilidade físico-química, microbiológica e quiral das formulações desenvolvidas.

Na etapa de estudos de estabilidade realizada durante 84 dias, as formulações foram avaliadas em diferentes condições de temperatura, o que permitiu uma análise mais abrangente do comportamento dos atributos críticos da qualidade e melhor visualização do impacto dos parâmetros críticos do processo,

objetivando o intervalo de tempo confiável para sua utilização, bem como as ideais condições de armazenamento. As formulações XS e CMC apresentaram estabilidade físico-química e microbiológica durante os 84 dias do estudo, acondicionadas em frascos de vidro âmbar e armazenadas em temperatura ambiente ou sob refrigeração. Quando armazenadas sob aquecimento à 40 °C, a partir do 28º dia do estudo, ambas formulações apresentaram modificação em sua cor, o que pode estar relacionado ao conservante sorbato de potássio, que pode sofrer oxidação quando submetido ao aquecimento, resultando numa coloração amarela escura (FERRAND *et al.*, 2000; HAN e FLOROS, 1998). Além disso, as formulações apresentaram um comportamento de queda em sua viscosidade ao longo do estudo quando armazenadas à 40°C, não sendo recomendado armazená-las sob elevadas temperaturas. Pode-se inferir que as duas formulações estudadas apresentaram estabilidade quiral após 84 dias de estudo, visto que não foi observada a ocorrência do fenômeno de inversão quiral entre os enantiômeros (*R*)-baclofeno e (*S*)-baclofeno.

De composição concisa e processo produtivo simplificado, as formulações desenvolvidas poderão integrar e facilitar a rotina da Farmácia Semi-industrial do HCPA e de outros hospitais, reduzindo o número de manipulações, visto o maior período de estabilidade de tais formulações, frente a preparações extemporâneas, como as derivações. As formulações na forma líquida poderão promover a redução de erros de cálculo durante o preparo, de inexatidão de dose, de contaminação, de perda de estabilidade, entre outros aspectos, os quais consistem em problemas rotineiros no contexto hospitalar no preparo de derivações (COSTA, LIMA e COELHO, 2009; HAYWOOD e GLASS, 2013; NAHATA e ALLEN, 2008; SANTOS e HEINECK, 2011). As formulações orais líquidas contendo baclofeno permitirão facilidade de administração, versatilidade no ajuste de dose e maior adesão ao tratamento devido ao sabor agradável, fornecendo segurança para beneficiar pacientes e equipe técnica do HCPA e de outros hospitais. Representam uma inovação incremental, pois são novas formas farmacêuticas ainda não registradas no Brasil e atendem a uma demanda relacionada à via de administração e a uma necessidade real do hospital e dos pacientes.

8. CONCLUSÕES

8. CONCLUSÕES

- A caracterização da matéria-prima baclofeno por UV, faixa de fusão, DSC e MS demonstrou que estava adequada para ser utilizada no desenvolvimento das formulações orais líquidas contendo baclofeno;
- Os estudos de pré-formulação para desenvolvimento de formulações orais líquidas contendo baclofeno promoveram um direcionamento inicial para os excipientes a serem utilizados e para o processo produtivo mais adequado;
- A abordagem do *quality by design* auxiliou na escolha dos excipientes e de suas concentrações e na otimização das formulações, promovendo uma avaliação das variáveis relacionadas ao processo produtivo, direcionando para a Formulação XS contendo xarope simples como veículo e para a Formulação CMC, contendo solução de carboximetilcelulose sódica como veículo;
- As formulações foram desenvolvidas de forma simples e contendo excipientes acessíveis para que possam ser reproduzidas na Farmácia Semi-industrial do Hospital de Clínicas de Porto Alegre ou de outros hospitais;
- O método analítico indicativo de estabilidade desenvolvido por CLAE aquiral demonstrou seletividade, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, precisão, exatidão e robustez para a finalidade pretendida, ou seja, a quantificação de baclofeno nas formulações desenvolvidas;
- O desenvolvimento da metodologia analítica por CLAE quiral para determinação quantitativa dos enantiômeros (*R*)-baclofeno e (*S*)-baclofeno forneceu subsídios para melhor entendimento e conhecimento do comportamento dos mesmos em análises quirais e permitiu a avaliação da estabilidade quiral das formulações desenvolvidas;

- Os estudos de estabilidade físico-química, microbiológica e quiral das formulações armazenadas em frasco de vidro âmbar foram realizados pelo período de 84 dias em temperatura ambiente, refrigerada e a 40 °C. Os resultados demonstraram que ambas as formulações não apresentaram variação de teor além dos limites estipulados (90,0 – 110,0%), o pH manteve-se sempre próximo ao valor inicial (aproximadamente 5,0), os limites microbianos para preparações aquosas de uso oral foram atendidos e pode-se inferir que não ocorreu o fenômeno de inversão quiral dos enantiômeros do fármaco;
- Os resultados obtidos neste estudo poderão servir de aporte no preparo de formulações orais líquidas contendo baclofeno na rotina hospitalar e colaborar com a segurança e adesão ao tratamento de pacientes adultos e pediátricos.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOUL-ENEIN, H. Y.; ALI, I. Macrocyclic antibiotics as effective chiral selectors for enantiomeric resolution by liquid chromatography and capillary electrophoresis. **Chromatographia**, v. 52, p. 679-691, 2000.
- AHUJA, S. A strategy for developing HPLC methods for chiral drugs. **LCGC North America**, n. 25, p. 70-79, 2008.
- AHUJA, S. Overview of Chiral Separations. In: AHUJA, S. (Ed.). **Chiral Separation Methods for pharmaceutical and biotechnological products**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2011. p. 1-8.
- ALI, I. *et al.* Effect of Various Parameters and Mechanism of Reversal Order of Elution in Chiral HPLC. **Current Analytical Chemistry**, v. 16, n. 1, p. 59-78, 2020.
- ALI, I. *et al.* Chiral separation and modeling of baclofen, bupropion, and etodolac profens on amylose reversed phase chiral column. **Chirality**, v. 29, n. 7, p. 386-397, 2017.
- ALI, I. *et al.* Stereoselective interactions of profen stereomers with human plasma proteins using nano solid phase micro membrane tip extraction and chiral liquid chromatography **Separation and Purification Technology**, n.197, p. 336–344, 2018.
- ALLEN, L. V.; ERICKSON, M. A. Stability of baclofen, captopril, diltiazem hydrochloride, dipyridamole, and flecainide acetate in extemporaneously compounded oral liquids. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 53, n. 18, p. 2179-2184, 1996.
- ALLEN, L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Ansel's pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems**. 8 ed. Philadelphia: Lippincott Wilians and Wilkins, 2005.
- BARKER, S. A. Suspensões. In: AULTON, M.E.; TAYLOR, K.M.G. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.
- BATRA, S.; BHUSHAN, R. Enantioresolution of (*RS*)-baclofen by liquid chromatography: A review. **Biomedical Chromatography**, v. 31, p. 1-15, 2017.
- BERTHOD, A. Chiral Recognition Mechanisms in Enantiomers Separations: A General View. In: BERTHOD, A (Ed.). **Chiral Recognition in Separation Methods: Mechanisms and Applications**. Heidelberg: Springer, 2010. p. 1-32.
- BEZERRA, M. P.; RODRIGUES, L. N. C. Quality by Design (QbD) como ferramenta para otimização dos processos farmacêuticos. **Infarma-Ciências Farmacêuticas**, v. 29, n. 1, p. 5-12, 2017.

BHARATE, S. S.; BHARATE, S. B.; BAJAJ, A. N. Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review. **Journal of Excipients and Food Chemicals**, v.1, n. 3, p. 3-26, 2010.

BP 2014. **British Pharmacopoeia 2014**. British Pharmacopoeia Commission Office. London: The Stationery Office, 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 67 de 8 de outubro de 2007. Dispõe sobre as boas práticas de manipulação de preparações magistrais e oficinais para uso humano em farmácias. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2007a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 16 de 2 de março de 2007, Aprova Regulamento Técnico para Medicamentos Genéricos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2007b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 17 de 2 de março de 2007, Dispõe sobre o registro de Medicamento Similar e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2007c.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 57 de 17 de novembro de 2009, Dispõe sobre o registro de insumos farmacêuticos ativos (IFA) e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2009a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 64 de 18 de dezembro de 2009, Dispõe sobre o Registro de Radiofármacos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2009b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 24 de 14 de junho de 2011, Dispõe sobre o registro de medicamentos específicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2011.

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

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 60 de 10 de outubro de 2014, Dispõe sobre os critérios para a concessão e renovação do registro de medicamentos com princípios ativos sintéticos e semissintéticos, classificados como novos, genéricos e similares, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2014a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 53 de 4 de dezembro de 2015. Estabelece parâmetros para a notificação, identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos com substâncias ativas sintéticas e semissintéticas, classificados como novos, genéricos e similares e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2015.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 73 de 7 de abril de 2016, Dispõe sobre mudanças pós-registro, cancelamento de registro de medicamentos

com princípios ativos sintéticos e semissintéticos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2016a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 76 de 2 de maio de 2016, Dispõe sobre realização de alteração, inclusão, e cancelamento pós-registro de medicamentos específicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2016b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Assistência Farmacêutica em Pediatria no Brasil**: recomendações e estratégias para a ampliação da oferta, do acesso e do Uso Racional de Medicamentos em crianças. 1 ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2017a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 166 de 24 de julho de 2017, Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2017b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 318 de 6 de novembro de 2019. Estabelece os critérios para a realização de Estudos de Estabilidade de insumos farmacêuticos ativos e medicamentos, exceto biológicos, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2019a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 301 de 21 de agosto de 2019. Dispõe sobre as Diretrizes Gerais de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2019b.

BREITKREUTZ, J. European Perspectives on Pediatric Formulations. **Clinical Therapeutics**, v. 30, n. 11, p. 2146-2154, 2008.

BRUNS, C.; OBER, M. Development and Preparation of Oral Suspensions for Paediatric Patients – a Challenge for Pharmacists. **Pharm. Technol Hosp. Pharm.**, v. 3, n. 2, p. 113–119, 2018.

BUDAVARI, S. *et al.* (Ed). **The Merck Index**: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 12 ed. Whitehouse Station, NJ: Merck Research Laboratories Division of Merck & Co., Inc, 1996.

CARRANZA, J. H.; TORREJÓN, J. C. M. **Atención farmacêutica em pediatria**. Madrid: Elsevier, 2007.

CARVALHO, P. R. A. *et al.* Identificação de medicamentos “não apropriados para crianças” em prescrições de unidade de tratamento intensivo pediátrica. **Jornal de Pediatria**, v. 79, n. 5, p. 397-402, 2003.

CAVAZZINI, A. *et al.* Recent applications in chiral high performance liquid chromatography: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 706, p. 205-222, 2011.

CAVAZZUTI, M. **Optimization Methods**: from Theory to Design Scientific and Technological Aspects. Verlag Berlin Heidelberg: Springer, 2013. 262 p.

- CHAROO, N. A. *et al.* Quality by design approach for formulation development: A case study of dispersible tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 423, n. 2, p. 167-178, 2012.
- CHIENGA, N.; RADESB, T.; AALTONENC, J. An overview of recent studies on the analysis of pharmaceutical polymorphs. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, p. 618-644, 2011.
- COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de Cromatografia**. 1. ed. Campinas: Editora Unicamp, 2006.
- COSTA, P. Q.; LIMA, J. E. S.; COELHO, H. L. L. Prescrição e preparo de medicamentos sem formulação adequada para crianças: um estudo de base hospitalar. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 1, p. 57-66, 2009.
- CRAM, A. *et al.* Challenges of developing palatable oral paediatric formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 365, p. 1–3, 2009.
- DAVIES, N. M. Chiral Inversion. In: INDRA, K.; MEHVAR, R. (Ed.). **Chirality in Drug Design and Development**. New York, 2004. p. 351-392.
- DELL'AERA, M. *et al.* Unlicensed and *off-label* use of medicines at a neonatology clinic in Italy. **Pharmacy World & Science**, v. 29, n. 4, p. 361-367, 2007.
- DENG, H. *et al.* Application of Quality by Design (QbD) Principles to the Formulation of Extended-Release Theophylline Hydrophilic Matrix Tablets. Poster Reprint CRS 2011.
- DI PAOLO, E. R. *et al.* Unlicensed and *off label* drug use in a Swiss paediatric university hospital. **Swiss Medical Weekly**, v. 136, p.218-222, 2006.
- DRUGBANK.** Drug and drug target database. Disponível em: <<https://www.drugbank.ca/drugs/DB00181>>. Acesso em: 05/06/2022.
- DUKOVA, O. A.; KRASNOV, E. A.; EFREMOV, A. A. Development of na HPLC method for determining baclofen. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 48, n. 10, p. 689-691, 2015.
- EMA. European Medicines Agency. **Guideline on pharmaceutical development of medicines for paediatric use**. Londres: EMA, 2014. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-pharmaceutical-development-medicines-paediatric-use_en.pdf> Acesso em: 18/02/2022.
- FB 6. **Farmacopeia Brasileira**, 6 ed. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2019.
- FDA. Food and Drug Administration. Approved Drug Products with Therapeutic Equivalence Evaluations (Orange Book). 41 ed., 2022. Disponível em:

<<https://www.fda.gov/drugs/informationondrugs/ucm129662.htm>>. Acesso em 18/06/2022.

FERRAND, C.; MARC, F.; FRITSCH, P.; SAINT DE BLANQUAT, G. Influence of various parameters on the browning of potassium sorbate in the presence of amines. **Food Additives and Contaminants**, v. 17, n. 12, p. 947-956, 2000.

FERREIRA, A. O.; SOUZA, G. F. **Preparações Orais Líquidas**: Formulário, procedimento de preparo, flavorização, estabilidade e conservação. 1 ed. São Paulo: Pharmabooks, 2005.

FERREIRA, A. O. *et al.* Stability of Acetazolamide, Baclofen, Dipyridamole, Mebevarine Hydrochloride, Propylthiouracil, Quinidine Sulfate, and Topiramate Oral Suspensions in SyrSpend SF PH4. **International Journal of Pharmaceutical Compounding**, v. 21, n. 4, p. 255-262, 2017.

FERREIRA, L. A. *et al.* High prevalence of *off-label* and unlicensed drug prescribing in a Brazilian intensive care unit. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 58, n. 1, p. 82-87, 2012.

FUKUDA, I. M. *et al.* Design of Experiments (DoE) applied to Pharmaceutical and Analytical Quality by Design (QbD). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 54, 2018.

GAISFORD, S. Pré-formulação farmacêutica. In: AULTON, M.E.; TAYLOR, K.M.G. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

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

GIBSON, M. **Pharmaceutical preformulation and formulation**: a practical guide from candidate drug selection to commercial dosage form. 2nd ed. New York: Informa Healthcare, 2009. 541 p.

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

GODA, R. *et al.* Simple and sensitive liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for determination of the S(+)- and R(–)-enantiomers of baclofen in human plasma and cerebrospinal fluid. **Journal of Chromatography B**, v. 801, p. 257–264, 2004.

GRANGEIA, H. B. *et al.* Quality by design in pharmaceutical manufacturing: A systematic review of current status, challenges and future perspectives. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 147, p. 19-37, 2020.

- HAN, J. H.; FLOROS, J. D. Modelling the change in colour of potassium sorbate powder during heating. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 33, p. 199–203, 1998.
- HAYWOOD, A.; GLASS, B. D. Liquid Dosage Forms Extemporaneously Prepared from Commercially Available Products - Considering New Evidence on Stability. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 16, n. 3, p. 441-455, 2013.
- HEFNAWY, M. M.; ABOUL-ENEIN, H. Y. Enantioselective high-performance liquid chromatographic method for the determination of baclofen in human plasma. **Talanta**, v. 61, n. 5, p. 667-673, 2003.
- HEINECK, I.; BUENO, D.; HEYDRICH, J. Study on the use of drugs in patients with enteral feeding tubes. **Pharm World Sci**, v. 31, p. 145-148, 2009.
- HENNART, S. L. A. *et al.* Stability of particle suspensions after fine grinding. **Powder Technology**, n. 199, p. 226-231, 2010.
- ICH. International Conference on Harmonisation. **Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances Q6A**, 1999.
- ICH; International Conference on Harmonization. **Guideline on Validation of Analytical Procedure-Methodology Q2B(R1)**, 2005.
- ICH. International Conference on Harmonisation. **Pharmaceutical Quality System Q10**, 2008.
- ICH. International Conference on Harmonisation. **Pharmaceutical Development Q8(R2)**, 2009.
- JOHNSON, C. E.; HART, S. M. Stability of an Extemporaneously Compounded Baclofen Oral Liquid. **American Journal of Hospital Pharmacy**, v. 50, n. 11, p. 2353-2355, 1993.
- JP 17. **The Japanese Pharmacopoeia**. 17 ed. Tokyo: Society of Japanese Pharmacopoeia, 2016.
- JONES, D. **Pharmaceutics: dosage form and design**. London: Pharmaceutical Press, 2008.
- KAZAKEVICH, Y.; LOBRUTTO, R. **HPLC for Pharmaceutical Scientists**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2007.
- KENT, C. N.; PARK, C.; LINDSLEY, C. W. Classics in Chemical Neuroscience: Baclofen. **ACS Chemical Neuroscience**, n. 11, p. 1740–1755, 2020.
- KOURTI, T.; DAVIS, B. The Business Benefits of *Quality by Design* (QbD). **Pharmaceutical Engineering**, v. 32, n. 4, p. 1-10, 2012.

- LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANIG, J. L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. 2. ed. Lisboa: Calouste Gulben Kian, 2010. v. 2.
- LANGEROVÁ, P.; VRTAL, J.; URBÁNEK, K. Incidence of unlicensed and *off-label* prescription in children, **Italian Journal of Pediatrics**, v. 40, n. 12, p. 1-6, 2014.
- LASS, J. *et al.* Drug utilisation pattern and *off-label* use of medicines in Estonian neonatal units. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 67, n. 2, p.1263-1271, 2011.
- LEITE, E. G. **Estabilidade: importante parâmetro para avaliar a qualidade, segurança e eficácia de fármacos e medicamentos**. 2005. 178f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.
- LIMA, V. L. E. Os Fármacos e a Quiralidade: uma breve abordagem. **Química Nova**, v. 20, n. 6, p. 657-663, 1997.
- LIONBERGER, R. A. *et al.* Quality by Design: Concepts for ANDAs. **The AAPS Journal**, v. 10, n. 2, p. 268-276, 2008.
- LUBI, N. C.; SATO, M. E. O.; GAENSLY, F. Desenvolvimento de forma farmacêutica líquida de uso oral, isenta de substâncias glicogênicas, com extrato fluido de *Mikania glomerata* Sprengel - Asteraceae (guaco). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 43-46, 2003.
- MAGALHÃES, J. *et al.* Use of *off-label* and unlicensed drugs in hospitalised paediatric patients: a systematic review. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 71, p. 1-13, 2015.
- MAIER, N. M.; FRANCO, P.; LINDNER, W. Separation of enantiomers: needs, challenges, perspectives. **Journal of Chromatography A**, v. 906, p. 3-33, 2001.
- MARINHO, R. N.; CABRAL, C. H. K. Study Adaptations of Pharmaceutical formulations in a University Children's Hospital. **Revista Brasileira de Farmácia Hospitalar e Serviços de Saúde**, v.5, n.3, p. 12-17, 2014.
- METACEL PHARMACEUTICALS, 2020. Ozobax® Oral Solution. Atenas, 2020. Bula.
- MURDAN, S. Soluções. In: Aulton M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.
- NAHATA, M. C.; ALLEN, L. V. Extemporaneous Drug Formulations. **Clinical Therapeutics**, v. 30, n. 11, p. 2112-2119, 2008.
- NETO, A. J. S. Problemas com o formato dos picos em cromatografia líquida. **Scientia Chromatographica**, v.1, n.3, p. 69-77, 2009.
- NGUYEN, L. A.; HE, H.; PHAM-HUY, C. Chiral drugs: an overview. **Int. J. Biomed. Sci.**, v. 2, n. 2, p. 85-100, 2006.
- NOVARTIS, 2013. Lioresal® Intrathecal Product Monograph. Canadá, 2013.

- NOVARTIS, 2019. Lioresal® Liquid. Londres, 2019. Bula.
- NOVARTIS, 2021. Lioresal® Comprimidos 10 mg. São Paulo, 2021. Bula.
- O'DONNELL, P. B.; BOKSER, A. D. Stability of pharmaceutical products. In: TROY, D. B.; BERINGER, P. **Remington: the science and practice of pharmacy**. 22. ed. Philadelphia: The University of the Sciences, 2013. v. 1.
- OLIVEIRA, M. A.; YOSHIDA, M. I.; GOMES, E. C. L. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1224-1230, 2011.
- PALEKAR, S. *et al.* Application of 3D printing technology and *quality by design* approach for development of age-appropriate pediatric formulation of baclofen. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 556, p. 106–116, 2019.
- PANDOLFINI, C.; BONATI, E. A literature review on *off-label* drug use in children. **European Journal of Pediatrics**, v. 164, p. 552-558, 2005.
- PANELLA, C. *et al.* Temperature and eluent composition effects on enantiomer separation of carvedilol by high-performance liquid chromatography on immobilized amylose-based chiral stationary phases. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 9, n. 5, p. 324-331, 2019.
- PATEL, N. *et al.* Formulation and development of ophthalmic in situ gel for the treatment ocular inflammation and infection using application of quality by design concept. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 42, n. 9, p.1406–1423, 2016.
- PATEL, V. P. *et al.* Extemporaneous Dosagem Form for Oral Liquids. **Pharmacophore**, v. 2, n. 2, p. 86-103, 2011.
- PEREIRA, A. C. S. *et al.* Medicamentos magistrais em recém-nascidos e crianças hospitalizados. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 34, n. 4, p.403-407, 2016.
- PINTO, T. J. A.; KANEKO, T. M.; PINTO, A. F. **Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2010.
- POLONINI, H. *et al.* Compatibility of Baclofen, Carvedilol, Hydrochlorothiazide, Mercaptopurine, Methadone Hydrochloride, Oseltamivir Phosphate, Phenobarbital, Propranolol Hydrochloride, Pyrazinamide, Sotalol Hydrochloride, Spironolactone, Tacrolimus Monohydrate, Ursodeoxycholic Acid, and Vancomycin Hydrochloride Oral Suspensions Compounded with SyrSpend SF pH4. **Int. J. Pharm. Compd.**, v. 22, n. 6, p. 516-526, 2018.
- PUBCHEM COMPOUNDS.** Compound Summary. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2284#section=Top>>. Acesso em: 05/06/2022.

- PUROHIT, T. J. *et al.* Formulation and stability evaluation of an extemporaneously prepared baclofen suspension (1 mg/mL). **J. Pharm. Pract. Res.**, v. 51, n.4, p. 314-320, 2021.
- ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 6 ed. London: Pharmaceutical Press, 2009.
- SANTORO, M. I. R. M.; SINGH, A. K. Development and regulation of chiral drug substances: an overview on worldwide pharmaceutical guidelines. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 3, p. 259-268, 2001.
- SANTOS, J.; ROSA, P.; ADAMS, A. I. H. Validation of a simple reversed Phase-HPLC method for determination of Baclofen in tablets. **Drug Analytical Research**, v. 2, n. 2, p. 37-43, 2018.
- SANTOS, L.; HEINECK, L. Extemporaneous Oral Preparations. An Alternative for Hospitalized Children. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 30, n. 5, p. 996-1000, 2011.
- SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X; KIEMLE, D. J. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 7 ed. United States of America: John Wiley & Sons, 2005.
- SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Química Orgânica**. 10. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012, 1 v.
- STANDING, J. F.; TULEU, C. Paediatric formulations - Getting to the heart of the problem. **International Journal of Pharmaceutics**, n. 300, p. 56-66, 2005.
- STORPIRTIS, Sílvia *et al.* **Biofarmacotécnica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.
- USP 45. **The United States Pharmacopeia**. 45. ed. Rockville: United States Pharmacopeia Convention, 2022.
- VIDUSHI, Y.; MEENAKSHI, B. A review on HPLC method development and validation. **Research Journal of Life Sciences, Bioinformatics, Pharmaceutical and Chemical Sciences**, v. 2, n. 6, p. 166-178, 2017.
- WATSON, D. G. **Pharmaceutical Analysis: A textbook for pharmacy students and pharmaceutical chemists**. 3. ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 2012.
- WSÓL, V.; SKÁLOVÁ, L.; SZOTÁKOVÁ, B. Chiral Inversion of Drugs: Coincidence or Principle? **Current Drug Metabolism**, v. 5, n.6, p. 517-533, 2004.
- YAMAMOTO, C. H.; PINTO, T. J. A.; MEURER, V. M.; CARVALHO, A. M.; REZENDE, P. Controle de qualidade microbiológico de produtos farmacêuticos, cosméticos e fitoterápicos produzidos na Zona da Mata, MG. **Anais do 2º Congresso Brasileiro de Extensão Universitária**, Belo Horizonte, p. 42-47, 2004.

YAO, B. *et al.* Temperature-induced inversion of elution order in the chromatographic enantioseparation of 1,1'-bi-2-naphthol on an immobilized polysaccharide-based chiral stationary phase. **J. Chromatogr. A**, v. 216, n. 28, p. 5429-5435, 2009.

YOSHIOKA, S.; STELLA, V. J. **Stability of Drugs and Dosage Forms**. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2000.

YU, L. X. Pharmaceutical quality by design: Product and process development, understanding, and control. **Pharmaceutical Research**, v.25, n.4, p.781-791, 2008.

YU, L. X. *et al.* Understanding Pharmaceutical Quality by Design. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 16, n.4, p. 771-783, 2014.

ZHU, Z.; NEIRINCK, L. Chiral separation and determination of *R*-(-)- and *S*-(+)-baclofen in human plasma by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography B**, n.785, p. 277–283, 2003.