

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Micheline Silva Dias

**DESENVOLVIMENTO E ESTUDO DE ESTABILIDADE DE
SUSPENSÕES DE SULFADIAZINA PARA USO PEDIÁTRICO**

Santa Maria, RS
2022

Micheline Silva Dias

**DESENVOLVIMENTO E ESTUDO DE ESTABILIDADE DE SUSPENSÕES DE
SULFADIAZINA PARA USO PEDIÁTRICO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Controle de Qualidade e Avaliação Biofarmacêutica de Insumos e Medicamentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Farmacêuticas**.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Andréa Inês Horn Adams

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Luana Mota Ferreira

Santa Maria, RS
2022

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Dias, Micheline Silva
Desenvolvimento e estudo de estabilidade de
suspensões de sulfadiazina para uso pediátrico /
Micheline Silva Dias.- 2022.
75 p.; 30 cm

Orientadora: Andréa Inês Horn Adams
Coorientadora: Luana Mota Ferreira
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós
Graduação em Ciências Farmacêuticas, RS, 2022

1. Formulação pediátrica 2. Sulfadiazina 3. Suspensão
4. Toxoplasmose congênita I. Horn Adams, Andréa Inês II.
Mota Ferreira, Luana III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Micheline Silva Dias

**DESENVOLVIMENTO E ESTUDO DE ESTABILIDADE DE SUSPENSÕES DE
SULFADIAZINA PARA USO PEDIÁTRICO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Controle de Qualidade e Avaliação Biofarmacêutica de Insumos e Medicamentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Farmacêuticas**.

Aprovada em 18 de fevereiro de 2022:



Andréa Inês Horn Adams, Dr^a. (UFSM)
(Presidente/orientador)



Lisiane Bajerski, Dr^a. (UNIPAMPA)



Cristiane de Bona da Silva, Dr^a. (UFSM)

Santa Maria, RS
2022

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à minha mãe por todo amor, incentivo, apoio emocional, abdicção e esforço para que eu pudesse estar aqui hoje. Agradeço também ao meu pai e meu padrasto pelo encorajamento e carinho.

À Profª Drª. Andréa Adams, minha orientadora, pela oportunidade e por ter acreditado na minha capacidade, além disso, agradeço também por todos os aprendizados, sempre ofertados com muita paciência e carinho.

À minha coorientadora, Profª Drª Luana Ferreira por toda ajuda, estímulo, perrengues e experimentos divididos. Certamente, este percurso teria sido muito mais sofrido sem a ajuda da melhor coori que eu poderia ter.

Às minhas IC's queridas, que me acompanharam desde os primeiros passinhos quando nada dava certo kkkk Luísa, Bárbara, Rebeca, Manu e Amanda, muito obrigada por toda ajuda com esse trabalho e obrigada por tornarem nossos experimentos mais leves e divertidos. Agradeço em especial à Amandinha, que sempre foi minha companheira, esteve sempre disposta a tudo que fosse solicitado, àquela que não tinha tempo feio, tava sempre pronta.

Às minhas colegas de laboratório, Dani Mattes e Josi, pela alegria compartilhada, pelo apoio moral quando tudo dava errado nos experimentos das três kkkkk Agradeço também à Julya e a Letícia, não só pela amizade, mas por sempre se mostrarem dispostas a ajudar no que fosse necessário, vocês foram muito importantes em vários momentos dessa jornada. Da mesma maneira, agradeço à Jéssica do LabTec, que sempre foi muito querida e me auxiliou quando eu tinha dúvidas ou problemas com os equipamentos.

À minha amiga Tielle, pela amizade que construímos durante a pós-graduação e pelo apoio e ajuda nos experimentos.

Quero agradecer também à minha amiga Ana Flávia, por todo carinho, dedicação e ajuda com o meu trabalho.

À minha família e ao meu namorado por compreenderem a minha ausência nessa reta final e colaborarem para que os dias fossem menos exaustivos.

Por fim, agradeço a todos os colegas e professores que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho, bem como, às colaboradoras do CCS Miriam, Sirlei e Cleia que são sempre tão carinhosas e receptivas.

RESUMO

DESENVOLVIMENTO E ESTUDO DE ESTABILIDADE DE SUSPENSÕES DE SULFADIAZINA PARA USO PEDIÁTRICO

AUTORA: Micheline Silva Dias
ORIENTADORA: Andréa Inês Horn Adams
COORIENTADORA: Luana Mota Ferreira

O Brasil é um dos países com maior prevalência de toxoplasmose congênita do mundo e o tratamento da infecção é feito através da associação de sulfadiazina (SDZ), pirimetamina e ácido folínico. Entretanto, a SDZ encontra-se disponível comercialmente apenas na forma de comprimidos, o que dificulta o tratamento em crianças acometidas pela doença. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e avaliar a estabilidade de formulações para uso pediátrico, que apresentem características adequadas e excipientes compatíveis com a faixa etária. Para tal, foram preparadas suspensões de SDZ 100 mg/mL obtidas a partir do insumo farmacêutico ativo (suspensão A) e de comprimidos triturados (suspensão B). As formulações foram elaboradas, após cautelosa escolha dos excipientes e das concentrações a serem utilizadas, e armazenadas sob refrigeração, durante 30 dias para avaliação da estabilidade. A estabilidade física das suspensões foi analisada através das características organolépticas, pH, tamanho e morfologia das partículas e viscosidade, bem como, a estabilidade química foi verificada através do teor de SDZ, o qual foi determinado mediante aplicação do método desenvolvido e validado por cromatografia a líquido de ultra eficiência (CLUE). A dissolução das formulações também foi investigada, assim como, a estabilidade microbiológica, sendo que para esta última foi necessário inativar a ação antimicrobiana dos componentes da formulação a fim de evitar resultados falso-negativos. O pH das suspensões manteve-se na faixa da neutralidade e inalterado durante o estudo ($p > 0,05$). Houve diminuição do tamanho de partícula em cada formulação ao longo do tempo, sendo que a formulação B ($50,63 \pm 2,65 \mu\text{m}$) apresentou tamanho de partícula significativamente maior em relação à formulação A ($35,2 \pm 5,26 \mu\text{m}$). Adicionalmente, foi possível identificar a presença de cristais na suspensão A, advindos da própria SDZ, entretanto, não houve alteração dessa característica ao longo do período de análise. Ambas as formulações se apresentaram-se como fluidos não-Newtonianos e não houve alteração estatisticamente significativa na viscosidade, durante 30 dias. As suspensões A e B apresentaram teores próximos de 100% sem apresentar variação estatística, o que comprovou a estabilidade química de 30 dias. Além disso, apresentaram mais de 80% de dissolução em 15 minutos, sem diferença estatística significativa quando comparadas as porcentagens de SDZ dissolvida logo após a preparação e ao final do estudo, assim como, entre as formulações A e B. Não foi observado crescimento microbiano ($< 10 \text{ UFC/mL}$) em ambas as formulações, assim como, não foi identificada a presença de *Escherichia coli*, indicando que as formulações atendem aos padrões microbianos. As formulações desenvolvidas nesse estudo apresentaram estabilidade física, química e microbiológica de 30 dias, mantidas sob refrigeração, e consistem em opção para o tratamento da toxoplasmose congênita.

Palavras-chave: Formulação pediátrica. Sulfadiazina. Suspensão. Toxoplasmose congênita.

ABSTRACT

DEVELOPMENT AND STABILITY STUDY OF SULFADIAZINE SUSPENSIONS FOR PEDIATRIC USE

AUTHOR: Micheline Silva Dias
ADVISOR: Andréa Inês Horn Adams
CO-ADVISOR: Luana Mota Ferreira

Brazil is one of the countries with the highest prevalence of congenital toxoplasmosis in the world and the treatment of the infection is done through the association of sulfadiazine (SDZ), pyrimethamine and folinic acid. However, SDZ is commercially available only as tablets, which turns difficult the treatment of children. In this context, the objective of this work was to develop and to determine the stability of formulations for pediatric use, with adequate characteristics and excipients compatible with the age group. To achieve our goal, SDZ suspensions at 100 mg/mL were prepared, using the active pharmaceutical ingredient (API, suspension A) or crushed tablets (suspension B). The formulations were prepared, after careful choice of excipients and concentrations to be used and stored under refrigeration for 30 days for stability evaluation. The physical stability of the suspensions was analyzed through the organoleptic characteristics, pH, particle size and viscosity. The chemical stability was verified through the SDZ content, which was determined by an ultra-high performance liquid chromatography (UPLC) method developed and validated in this study. The dissolution of the formulations was also investigated, as well as the microbiological stability, for the latter it was necessary to inactivate the antimicrobial action of the formulation components, to avoid false-negative results. The pH of the suspensions remained in the neutrality range and unchanged during the study ($p > 0.05$). It was observed a decrease in particle size during the study ($p < 0.05$) for both formulations, as well as the formulation B ($50,63 \pm 2,65 \mu\text{m}$) presented a significantly larger particle size than formulation A ($35,2 \pm 5,26 \mu\text{m}$). Additionally, it was possible to identify the presence of crystals in suspension A, attributed to SDZ API, however, there was no change in this characteristic throughout the analysis period. Both formulations presented non-Newtonian flow and there was no statistically significant change in viscosity during 30 days. Suspensions A and B presented contents close to 100% without showing statistical variation, which proved the chemical stability of 30 days. In addition, they presented more than 80% dissolution in 15 minutes without statistically significant difference when compared to the percentage of SDZ dissolved in the beginning and at the end of the study, such as between formulations A and B. No microbial growth was observed ($< 10 \text{ CFU/mL}$) in both formulations, as well as the presence of *Escherichia coli* was not identified, that indicated that the developed formulations met the pharmacopeial requirements. The formulations developed in this study showed physical, chemical and microbiological stability for 30 days and may be an option for the treatment of congenital toxoplasmosis.

Keywords: Pediatric formulation. Sulfadiazine. Suspension. Congenital toxoplasmosis.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1 – Estrutura química da sulfadiazina.....19

DEVELOPMENT AND STABILITY STUDY OF SULFADIAZINE SUSPENSIONS FOR PEDIATRIC USE

Figures 1A – Typical chromatograms of the analysis solutions obtained using the optimized conditions; 1B) placebo suspension and specificity study chromatograms.....43
Figure 2 – Determination of viscosity of SDZ suspensions A and B by Brookfield viscometer during the 30 days of study.....47
Figure 3 – Dissoluted content of SDZ in suspensions A and B after 15 minutes of stirring at 0 and 30 days of storage.....48

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Figure 1 – Microscopic image in the 10x objective lens of suspension A and of suspension B.....60

DISCUSSÃO GERAL

Figura 2 – Imagem gráfica comparativa da análise do tamanho de partícula (μm), no tempo Inicial (0 dias), de 3 lotes da suspensão A realizada em equipamento Master Size.....64

Figura 3 – Imagem gráfica comparativa da análise do tamanho de partícula (μm), no tempo Inicial (0 dias), de 3 lotes da suspensão B realizada em equipamento Master Size.....64

LISTA DE QUADROS E TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA

Quadro 1 – Medicamentos utilizados para o tratamento da toxoplasmose congênita.....18

DEVELOPMENT AND STABILITY STUDY OF SULFADIAZINE SUSPENSIONS FOR

PEDIATRIC USE

Table 1 – Composition of SDZ 100 mg/mL oral suspensions, prepared from API (A) or from crushed tablets (B).....35

Table 2 – Residual content of SDZ after exposure to different stress conditions.....43

Table 3 – Precision and accuracy data of UPLC method.....44

Table 4. Results of pH, SDZ content and particle size of suspensions A and B over 30 days of study.....46

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table 1. Accuracy and precision results for SDZ (% recovery) at dissolution test.....56

Table 2. Inter-day precision for the SDZ standard stock solutions at dissolution test.....56

Table 3. Recovery results (%) of test microorganisms in Soybean-Casein Digest Agar and Sabouraud-dextrose Agar in the presence of SDZ suspension.....57

Table 4. Results of robustness evaluation.....57

LISTA DE ABREVIATURAS

μg	Micrograma
ACN	<i>Acetonitrile</i>
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
API	<i>Active Pharmaceutical Ingredient</i>
A	<i>Asymmetry</i>
BNZ	<i>Benznidazol</i>
K'	<i>Capacity fator</i>
cP	<i>CentiPoise</i>
CFU	<i>Colony-Forming Units</i>
CLUE	Cromatografia a líquido de ultra-eficiência
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HCl	Ácido clorídrico
Hplc	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
LOD	<i>Limits of Detection</i>
LOQ	<i>Limits of quantitation</i>
Mg	Miligrama
mL	Mililitro
N	<i>Theoretical plate</i>
NaOH	Hidróxido de sódio
pABA	<i>p-aminobenzoic acid</i>
PCRpolimerase	Reação em Cadeia da Polimerase
pH	potencial hidrogeniônico
SD	<i>Standard Deviation</i>
RSD	<i>Relative Standard Deviation</i>
SDZ	Sulfadiazina ou <i>Sulfadiazine</i>
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
UV-A	Ultravioleta A
UV-C	Ultravioleta C

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 OBJETIVOS.....	14
2.1 OBJETIVO GERAL.....	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3.1 TOXOPLASMOSE.....	15
3.1.1 Aspectos Gerais.....	15
3.1.2 Toxoplasmose Congênita.....	17
3.2 SULFADIAZINA (SDZ).....	19
3.3 PACIENTES PEDIÁTRICOS E DERIVAÇÃO DE FORMULAÇÕES.....	20
3.3.1 Excipientes para a pediatria.....	23
3.4 DISSOLUÇÃO DE FÁRMACOS.....	25
3.5 ESTUDOS DE ESTABILIDADE.....	27
4 DEVELOPMENT AND STABILITY STUDY OF SULFADIAZINE SUSPENSIONS FOR PEDIATRIC USE.....	30
5 DISCUSSÃO GERAL.....	61
6 CONCLUSÕES.....	67
7 REFERÊNCIAS.....	68

1 INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma infecção causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii* e é uma zoonose comum no mundo. O parasita é encontrado nas fezes de felídeos, seu hospedeiro definitivo, que contamina o ambiente e infecta os animais homeotérmicos, como aves e o homem (BRASIL, 2019a). A contaminação humana dá-se, principalmente, pela ingestão de alimentos ou água contaminados, porém, também pode haver transmissão congênita, da mãe para o feto durante a gestação, e, mais raramente, por transfusão sanguínea, transplante de órgãos e inalação (BRASIL, 2019b).

O Brasil é um dos países com maior prevalência de toxoplasmose congênita do mundo. Estima-se que entre 20 e 50% das mulheres em idade fértil estejam susceptíveis à contaminação durante a gestação, havendo risco de ocorrer transmissão transplacentária para o feto (BRASIL, 2011; BRASIL, 2019a). O risco de transmissão é maior durante o terceiro trimestre da gestação do que no primeiro, contudo, o grau de severidade da doença em fetos contaminados no primeiro trimestre gestacional parece ser maior (BOYER, 2000; BRASIL, 2011). Sendo assim, é importante apontar em que estágio da gestação a mulher foi infectada, para que seja estimado o risco de transmissão fetal e, dessa forma, tratar precocemente a gestante, prevenindo assim a transmissão congênita (CDC, 2020; MARTINS et al., 2019).

O tratamento de primeira escolha para a toxoplasmose congênita é a combinação de dois antimicrobianos, sulfadiazina e pirimetamina, com suplementação de ácido fólico, utilizado como prevenção da aplasia medular causada pela pirimetamina (MARTIN, 2011). Todos os recém-nascidos com toxoplasmose congênita confirmada e aqueles com suspeita de infecção congênita, em que a mãe possa ter sido infectada após a 30ª semana gestacional, deverão receber o tratamento independente da presença de sintomas (BRASIL, 2011). Entretanto, a SDZ está disponível comercialmente apenas sob a forma de comprimidos (MARTIN, 2011), o que dificulta a administração em crianças (VALENTE, 2014), fazendo-se necessário desenvolver formulações orais líquidas de SDZ. Adicionalmente, no ano de 2020, durante o desenvolvimento deste estudo, a produção de SDZ comprimidos foi interrompida, tornando relevante o desenvolvimento de preparações também com o insumo farmacêutico ativo (IFA) de SDZ.

Nesse contexto, apesar de existirem várias alterações fisiológicas envolvidas no desenvolvimento de neonatos e crianças, que podem interferir na segurança e eficácia do tratamento farmacológico, a maioria dos medicamentos produzidos é testada apenas em adultos, podendo levar a resultados imprevistos no público pediátrico (FERNANDEZ et al.,

2011; PEREIRA et al., 2016). Ademais, a escassez de produtos específicos para uso pediátrico e a dificuldade da maioria das crianças, com idade inferior a seis anos, em deglutir comprimidos induz ao uso generalizado de medicamentos *off label*, que consiste no uso para fins que não os aprovados pelo órgão regulatório ou não previstos em bula, o que poderá requerer ajustes de doses e derivação de especialidades farmacêuticas (BRASIL, 2012a; VALENTE, 2014).

As principais estratégias usadas a fim de obter formulações líquidas de uso oral para crianças e neonatos são a diluição a partir de formulações líquidas injetáveis e a preparação de formulações líquidas a partir da trituração de comprimidos ou da abertura de cápsulas, seguidas de solubilização ou suspensão em água, alimentos ou outras bebidas (SILVA et al., 2020; STORPIRTIS et al., 2008). O preparo da formulação pediátrica ideal envolve a administração precisa da dose, na forma farmacêutica adequada ao grupo etário proposto e a escolha e quantidade corretas dos excipientes a serem utilizados (LAM et al., 2013). Entre os principais problemas associados ao preparo de formulações extemporâneas para uso pediátrico estão erros na formulação, contaminação microbiana, erros de cálculo e a aceitação pelo paciente (SILVA et al., 2020).

Além disso, é importante que tais formulações tenham características apropriadas e que proporcionem segurança na administração. Para isso, é necessário avaliar a estabilidade física, química e microbiológica das formulações, levando em consideração a substância ativa, os excipientes, o processo de produção e a embalagem a ser utilizada no produto final para garantir a obtenção de uma formulação oral líquida estável (HAYWOOD; GLASS, 2013).

Face ao exposto, torna-se evidente a necessidade de desenvolvimento de formulação de sulfadiazina que seja adequada para uso pediátrico. Assim, este projeto propôs o desenvolvimento de suspensões orais de sulfadiazina para uso pediátrico, preparadas a partir da matéria-prima e de comprimidos, as quais foram avaliadas em relação à estabilidade física, química e microbiológica, de modo a assegurar sua eficácia e segurança.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver suspensões orais de sulfadiazina para uso pediátrico e avaliar a estabilidade física, química e microbiológica das preparações.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver suspensões de uso oral a partir da matéria-prima e de comprimidos de sulfadiazina;
- Desenvolver e validar método analítico indicativo de estabilidade por Cromatografia a Líquido de Ultra Eficiência (CLUE) para quantificação da sulfadiazina nas suspensões;
- Revalidar o ensaio usado na avaliação microbiológica das suspensões;
- Validar o teste de dissolução para análise das suspensões;
- Realizar estudo de degradação forçada a fim de estabelecer a estabilidade intrínseca da sulfadiazina e direcionar o desenvolvimento das formulações;
- Caracterizar as formulações desenvolvidas por métodos físicos e químicos;
- Avaliar a estabilidade física, química e microbiológica das suspensões de sulfadiazina, armazenadas em temperatura de $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 TOXOPLASMOSE

3.1.1 Aspectos gerais

Estima-se que cerca de um terço da população mundial seja acometida pela toxoplasmose, que tem sua contaminação dependente de fatores climáticos, hábitos alimentares e de higiene (BRASIL, 2011; BRASIL, 2019a; LAI et al., 2012). A contaminação pode ocorrer, principalmente, por via oral, através da ingestão de alimentos e água contaminados, por contaminação ambiental, ou por transmissão congênita, raramente ocorrendo transmissão por inalação, transplante de órgãos ou transfusão sanguínea (BRASIL, 2019b).

Embora seja uma infecção bastante comum, a toxoplasmose raramente apresenta manifestações clínicas. Em imunocompetentes, costuma evoluir sem sequelas e, por isso, recomenda-se tratamento somente para alívio dos sintomas. Pacientes imunocomprometidos ou que já tenham desenvolvido complicações da doença, como a diminuição auditiva e a cegueira, são encaminhados para atendimento especializado (BRASIL, 2019a; 2019b).

A infecção pelo *T. gondii* ocorre na maioria dos animais homeotérmicos, incluindo humanos (CDC, 2020). O parasita tem o gato e demais felinos como hospedeiro definitivo, mantendo seu ciclo sexual no intestino delgado. O homem e outros animais silvestres ou domésticos, como aves e suínos, são considerados hospedeiros intermediários, apresentando apenas ciclo assexuado (BRASIL, 2012b).

Algumas das principais maneiras de contaminação dos hospedeiros intermediários são através do contato com oocistos presentes no solo, ingestão de oocistos em alimentos ou água contaminados ou ingestão de cistos teciduais em carnes cruas ou mal cozidas (BORGES, 2015; CDC, 2020). Os oocistos, excretados nas fezes dos felinos, levam de 1 a 5 dias para amadurecer e apresentam forma resistente ao meio ambiente, podendo sobreviver e permanecer no ambiente por meses a anos (MONTROYA; LIESENFELD, 2004).

O *T. gondii* apresenta três formas principais: taquizoítos, bradizoítos e esporozoítos (ROBERT-GANGNEUX, 2013). Após a ingestão de alimentos contaminados contendo cistos teciduais ou oocistos, estes se rompem e invadem as células do hospedeiro intermediário, desenvolvendo-se em taquizoítos, forma de rápida multiplicação e localizada em tecidos musculares e nervosos, e, posteriormente, diferenciando-se em bradizoítos (CDC, 2020;

FRITZ et al., 2012). Os bradizoítos são característicos de fase crônica, multiplicam-se de forma lenta e são encontrados na forma de cistos no cérebro e músculos esquelético e cardíaco (MONTROYA; LIESENFELD, 2004).

Em indivíduos saudáveis, a resposta imune mantém o *T. gondii* sob controle, de modo que os cistos que contêm os bradizoítos permanecerão inativos no SNC ao longo da vida do hospedeiro intermediário, sem apresentar sinais clínicos. Ocorre um equilíbrio entre a sobrevivência do hospedeiro e do parasita proporcionado por moduladores imunes do hospedeiro e transformações do *T. gondii* para promoção da sua sobrevivência e transmissão, evitando-se danos excessivos aos tecidos do hospedeiro intermediário, que possam levar à morte (MAHAMED et al., 2012). Entretanto, pacientes imunodeprimidos podem ter a liberação de bradizoítos dos cistos, transformando-se novamente em taquizoítos e ocasionando a recrudescente da infecção (MONTROYA; LIESENFELD, 2004).

A infecção pelo parasita também pode ocorrer durante a gestação, de forma transplacentária, contaminando o feto. Essa via de contaminação é denominada infecção congênita e pode se dar através de infecção primária ou de reinfecção da gestante. Na infecção primária, taquizoítos atravessam a barreira placentária e ocorre a infecção do feto. A transmissão também pode ocorrer, mais raramente, quando a gestante é imunocomprometida e ocorre a reinfecção pelo parasita ou quando ocorre reativação da doença, na qual cistos teciduais dormentes de infecção anterior podem reiniciar o ciclo de vida do parasita e infectar o feto. A toxoplasmose aguda durante a gestação está relacionada a uma das principais causas de aborto espontâneo (BRASIL, 2011; KRIVOGORSKY et al., 2012; MARTINS et al., 2019).

Algumas medidas simples, como a lavagem das mãos, higiene de alimentos e a não ingestão de carnes cruas ou mal cozidas servem para prevenção da doença (BRASIL, 2011; BRASIL, 2019b;), sendo especialmente recomendadas para mulheres em idade fértil e indivíduos imunocomprometidos. O diagnóstico da infecção, geralmente, é feito por método indireto, através de testes sorológicos que detectam IgG, IgM e avididade de IgG, e também pode ser realizado através de técnicas moleculares de reação em cadeia da polimerase (PCR), que consiste em método de identificação direta do parasita. As metodologias podem ser combinadas para obtenção de avaliação adequada e são definidas de acordo com a capacidade laboratorial (BRASIL, 2018).

3.1.2 Toxoplasmose congênita

Conforme dados do Boletim Epidemiológico do Ministério da Saúde, o Brasil é um dos países com maior prevalência da doença no mundo (BRASIL, 2018). Recentemente, em 2018, o município de Santa Maria, no Rio Grande do Sul, registrou a confirmação de 809 casos de toxoplasmose, dos quais 114 eram gestantes e 22 nascidos com toxoplasmose congênita (PMSM, 2018), ultrapassando surto relatado anteriormente como o maior do mundo, no estado do Paraná (ALMEIDA et al., 2011). Ambos os surtos podem estar associados à contaminação da água (MINUZZI et al., 2020). Entre as mulheres em idade fértil, cerca de 50 a 80% apresentam anticorpos IgG positivo para o parasita, estimando-se, portanto, que 20 a 50% das mulheres em fase reprodutiva estejam susceptíveis à contaminação durante a gestação, havendo risco de transmissão transplacentária (BRASIL, 2011; BRASIL, 2019a).

A ocorrência de transmissão transplacentária é variável de acordo com o trimestre de gestação em que se dá a infecção pelo *T. gondii*, sendo maior durante o terceiro trimestre, correspondendo a 65% das contaminações durante a gestação, e menor no primeiro trimestre, representando 17% das contaminações. Entretanto, fetos contaminados durante o primeiro trimestre de gestação costumam apresentar maior severidade da doença em relação àqueles contaminados no terceiro trimestre (BRASIL, 2011). Dessa forma, identificar o período de gestação em que a mulher foi infectada é essencial para estimar o risco de infecção fetal e a possibilidade de desenvolvimento da doença no bebê e, assim, poder tratar a gestante precocemente e prevenir a transmissão congênita (BRASIL, 2011; MARTINS et al., 2019).

Cerca de 85% dos recém-nascidos (RNs) infectados são assintomáticos ao nascimento. Quando presentes, as alterações clínicas costumam ser distintas e singulares, entre elas destacam-se: macro ou microcefalia, prematuridade, crescimento intrauterino prejudicado e alterações visuais (BRASIL, 2011; BRASIL, 2019a). Nos casos em que há sinais clínicos no RN, estes costumam surgir durante o período neonatal ou nos primeiros meses de vida e, geralmente, apresentam sequelas com maior frequência e gravidade, como o comprometimento visual em diferentes graus (BRASIL, 2019a).

O principal objetivo do tratamento é impedir a replicação do protozoário especialmente para evitar danos irreversíveis à retina ocular e ao nervo óptico, o que pode causar cegueira definitiva, e é indicado em caso de diagnóstico comprovado de indivíduos imunocomprometidos, como pacientes HIV/AIDS, em infecções durante a gestação ou congênita e em caso de doença invasiva (KAYE, 2011; RORMAN; ZAMIR; BEN-DAVID,

2006). Se houver suspeita ou confirmação de infecção aguda anterior à 30ª semana de gestação, deve-se iniciar imediatamente o tratamento da gestante com espiramicina na dose de 3 g/dia, até o final da gestação. Para infecções posteriores à 30ª semana, a terapia indicada é a combinação de pirimetamina (50 mg/dia), sulfadiazina (3 g/dia) e ácido folínico (10 mg/dia) (BRASIL, 2010a). Em casos em que há alta suspeita ou confirmação de transmissão fetal não é indicado o uso de espiramicina, pois este medicamento não atravessa a barreira placentária e, portanto, não produz efeito terapêutico no feto. Nesse caso, indica-se o uso da associação de sulfadiazina, pirimetamina e ácido folínico (BRASIL, 2010a).

Devido às dificuldades encontradas para a obtenção do diagnóstico, recomenda-se que todos os RNs com toxoplasmose congênita confirmada e aqueles em que a mãe apresentou diagnóstico provável ou confirmado para toxoplasmose gestacional, sobretudo, se a contaminação ocorreu após a 30ª semana de gestação, sejam tratados (BRASIL, 2011). Independente de apresentar sinais e/ou sintomas aparentes, todas as crianças com diagnóstico comprovado deverão receber tratamento durante 12 meses. O tratamento de escolha é a combinação de sulfadiazina, pirimetamina e ácido folínico via oral, nas doses indicadas no Quadro 1 (BRASIL, 2011).

Quadro 1 – Medicamentos utilizados para o tratamento da toxoplasmose congênita

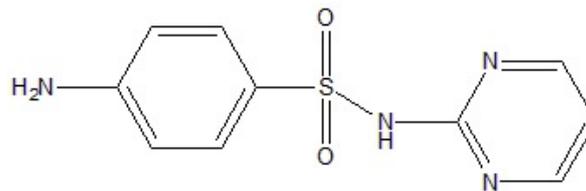
Medicamento	Apresentação farmacêutica	Posologia	Duração do tratamento
Sulfadiazina	Comprimidos de 500 mg	100 mg/kg/dia divididos em duas doses	12 meses
Pirimetamina	Comprimidos de 25 mg	1 mg/kg/dia em uma dose ao dia 1 mg/kg três vezes por semana	De 2 a 6 meses Até completar 1 ano de uso
Ácido folínico	Comprimidos de 15 mg	10 mg administrados três vezes por semana Quando neutropênico: Se <1000 neutrófilos/mm ³ , alterar dose para 20mg diários; Se <500 neutrófilos/mm ³ , suspender a pirimetamina até que ocorra recuperação.	Após interrupção do uso de pirimetamina, manter o tratamento por mais uma semana
Efeitos adversos	Intolerância gastrointestinal, reações de hipersensibilidade, hiperbilirrubinemia, erupção cutânea, cristalúria e, mais frequentemente, neutropenia e anemia.		

Fonte: Adaptação de *Atenção à saúde do recém-nascido* (BRASIL, 2011).

3.2 SULFADIAZINA (SDZ)

A SDZ é um antibiótico sintético da classe das sulfonamidas, fármacos que possuem atividade bacteriostática e apresentam amplo espectro de ação contra micro-organismos gram-positivos e negativos e alguns protozoários, como o agente da toxoplasmose (DMITRIENKO et al., 2014). Esses fármacos são análogos do ácido *para*-aminobenzoico (PABA), e atuam através da inibição da síntese de ácido fólico, que consiste em um componente necessário para a síntese de precursores de DNA e RNA (HILAL-DANDAN; BRUNTON, 2015). Desse modo, apenas os micro-organismos que sintetizam seu próprio ácido fólico são sensíveis às sulfonamidas. Todavia, um excesso de PABA anula o efeito bacteriostático (HILAL-DANDAN; BRUNTON, 2015).

Figura 1 – Estrutura química da sulfadiazina



Fonte: Elaborada pelo autor.

O fármaco caracteriza-se como um pó branco ou branco-amarelado, praticamente insolúvel em água, muito pouco solúvel em álcool etílico e solubilizado com facilidade em soluções diluídas de hidróxidos alcalinos (FB 6, 2019a). A SDZ possui dois grupamentos ionizáveis, sendo eles a amina aromática básica (pKa 1,8) e o grupo sulfonamida (pKa 6,5) e apresenta Log P -0,09 (BIALK-BIELINSKA et al., 2012). A SDZ possui baixa solubilidade em água (0.074 mg/mL) o que, conseqüentemente, reduz sua biodisponibilidade (DELRIVO; ZOPPI; LONGHI, 2012).

Conforme já mencionado, a SDZ faz parte do tratamento de primeira escolha para a toxoplasmose congênita em neonatos, entretanto, está disponível comercialmente apenas na forma de comprimidos (MARTIN, 2011), tornando necessária a transformação dessa forma farmacêutica para facilitar a administração pediátrica. Nesse contexto, a literatura apresenta alguns estudos que relatam o desenvolvimento de formulações para uso pediátrico.

Pathmanathan e colaboradores (2004) desenvolveram suspensões de SDZ a partir do comprimido triturado ou da matéria-prima do fármaco utilizando água estéril como veículo e obtiveram preparações com estabilidade química de até 3 dias, mantida em temperatura de 4 a

8 °C. Outro grupo de pesquisadores verificou a viabilidade e estabilidade química de preparação de suspensões orais de SDZ a partir do IFA utilizando como veículo o produto comercial SyrSpend® SF pH 4, por 90 dias, armazenadas sob refrigeração ou temperatura ambiente (FERREIRA et al., 2016). Entretanto, o uso de veículos comerciais em formulações extemporâneas encarece o produto final e nem todos os países tem acesso a esses veículos (MUSKO; SZNITOWSKA, 2014).

Costa e colaboradores (2020) desenvolveram duas formulações orais líquidas de SDZ a partir da dispersão do pó de comprimidos em xarope simples ou sorbitol, utilizando metilcelulose a 1% como agente suspensor, e o armazenamento foi realizado em temperatura de refrigeração e ambiente. A suspensão produzida em base de xarope simples foi considerada a melhor opção, pois apresentou estabilidade física, química e microbiológica de 14 dias à temperatura ambiente, enquanto que a preparação em sorbitol mostrou-se estável por apenas 7 dias em temperatura ambiente. Além disso, os autores concluíram que a refrigeração não proporcionou vantagens ao armazenamento das formulações. No entanto, a preparação de xaropes requer grandes quantidades de açúcar, o que pode ser inadequado para crianças, bem como, preparações com sorbitol em sua composição podem estar relacionadas a efeitos laxativos em pacientes pediátricos, principalmente, em tratamentos longos. Outro aspecto relevante é o curto período de estabilidade apresentado por ambas as suspensões.

3.3 PACIENTES PEDIÁTRICOS E DERIVAÇÃO DE FORMULAÇÕES

A maioria dos medicamentos para adultos não foi aprovada para uso pediátrico, devido à apresentação em forma ou dosagem farmacêutica inapropriada ou pelos excipientes presentes (STORPIRTIS et al., 2008; ROUAZ et al., 2021). Porém, a necessidade de uso de medicamentos nessa faixa etária é amplamente reconhecida (STORPIRTIS et al., 2008). Alguns fatores estão relacionados à falta de medicamentos específicos para uso na pediatria, como menor tamanho de mercado em relação ao público adulto, dificuldade para realização de ensaios clínicos em crianças, retorno financeiro lento e altas exigências propostas pelas agências reguladoras para o desenvolvimento de medicamentos pediátricos (FREED et al., 2005; SILVA et al., 2020). Além disso, devido ao amplo intervalo de idades desta população, dificilmente uma única preparação poderia ser utilizada para toda a faixa, de modo que seriam necessárias diversas variações do produto (BATCHELOR; MARRIOTT, 2013).

A carência de medicamentos específicos dá origem ao uso generalizado de medicamentos *off label*, sendo estimado que mais de 90% das preparações pediátricas sejam obtidas a partir dessa estratégia. Dentre as classes mais prescritas encontram-se

antimicrobianos, diuréticos e anti-helmínticos (BRASIL, 2012a). Dados de literatura reportam que mais da metade dos RNs de uma unidade de terapia intensiva (UTI) neonatal recebeu pelo menos uma prescrição em condições diferentes das autorizadas em bula, chegando a alcançar 100% dos pacientes dos subconjuntos de RNs prematuros e pacientes cirúrgicos (ALONSO et al., 2019). Outro estudo, realizado em UTI pediátrica, apontou que 23,4% dos medicamentos prescritos foram de uso *off label* e 12,6% de medicamentos não licenciados (FERREIRA et al., 2012). Dados como estes evidenciam a necessidade de fortalecer as informações disponíveis relacionadas ao uso de medicamentos em neonatos e acompanhar os efeitos adversos (ALONSO et al., 2019). Estudo realizado em hospital de grande porte do RS evidenciou que, entre as justificativas para o uso de medicamento *off label* ou não licenciado estão a indicação (53,8%), a idade (30,7%), o intervalo de administração (20,6%) e a dose prescrita (16,1%) (SANTOS; HEINECK, 2012).

A via oral é a via de escolha para administração de medicamentos em pacientes pediátricos. Entretanto, alguns medicamentos para uso oral estão disponíveis apenas na forma sólida, fazendo-se necessário buscar alternativas, como o desenvolvimento de formulações orais líquidas, para facilitar a administração aos pacientes com dificuldades de deglutição e melhorar a adesão ao tratamento farmacológico (VALENTE, 2014).

Um levantamento realizado em um hospital do Rio Grande do Norte, no qual foram avaliadas 2.270 prescrições médicas, indicou que 25,7% continham pelo menos um medicamento com necessidade de adaptação da formulação, resultando em uma média de 6,3 prescrições com adequações por dia. Ao longo do estudo, foram apuradas 1.505 adaptações, acarretando uma média de 21,8 adaptações por paciente com necessidades terapêuticas exclusivas, as quais foram realizadas no posto de enfermagem. Destas, 912 adaptações foram destinadas a pacientes pediátricos (de 0 a 7 anos), motivadas pela necessidade de ajuste de dose (MARINHO; CABRAL, 2014). Um estudo conduzido entre os anos de 2012 e 2013 em um hospital universitário do Rio de Janeiro indicou o preparo de 657 soluções e suspensões de 21 substâncias ativas para uso em pacientes RN e crianças (PEREIRA et al., 2016). Os principais problemas apontados pelos médicos são a ausência de formulações líquidas para uso oral, a presença de adjuvantes na composição de formulações farmacêuticas com potencial para causar reações adversas e a dificuldade para obter informações sobre dosagem correta em formulações pediátricas (COSTA; LIMA; COELHO, 2009).

De acordo com a RDC nº 67 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2007), derivação ou transformação farmacêutica é a “manipulação de especialidade farmacêutica visando o preparo de uma forma farmacêutica a partir de outra”. Esta técnica é

permitida exclusivamente a farmácias hospitalares ou de atendimento privativo com o objetivo de atender às demandas terapêuticas particulares de pacientes em assistência nos serviços de saúde. Para tal, algumas condições são estabelecidas: o procedimento deve objetivar assistir às necessidades terapêuticas individuais do paciente; apresentar justificativa técnica ou fundamentação em literatura científica; sua produção deverá ser realizada apenas quando não houver disponibilidade de matéria-prima ou inexistência de especialidade farmacêutica na dose e/ou forma farmacêutica adequada às necessidades do paciente; a formulação obtida será considerada de uso extemporâneo.

Recomenda-se que as adaptações sejam realizadas a partir do IFA, para evitar a administração de excipientes desnecessários. No entanto, na prática, algumas matérias-primas são indisponíveis, e por isso, a derivação torna-se mais viável (NISSEN; HAYWOOD; STEADMAN, 2009). No caso da preparação a partir de formas farmacêuticas sólidas, comprimidos são triturados ou cápsulas são abertas e, em sequência, é adicionado água ou outro veículo. São desafios inerentes a essa prática alcançar a uniformidade de dose, mascarar o sabor desagradável das formulações e obter dados de estabilidade das mesmas (SILVA et al., 2020).

A formulação pediátrica ideal deve fornecer forma farmacêutica adequada para a idade e administração precisa da dose. Além disso, requerem atenção especial os tipos e a quantidade de excipientes utilizados na formulação (LAM et al., 2013). Garantir a administração da dose correta, apropriada à idade, assegura a confiabilidade dos resultados obtidos em estudos clínicos pediátricos. Por outro lado, partir ou esmagar comprimidos e abrir cápsulas pode causar erro de dose, prejudicar as propriedades de liberação do fármaco e alterar a biodisponibilidade (WAN; HASHIMI; BATCHELOR, 2016). O preparo de formulações líquidas apresenta algumas vantagens em relação às sólidas, como a variedade de doses que podem ser medidas e administradas, porém, a necessidade do uso de agentes conservantes é uma desvantagem dessa preparação (VALENTE, 2014). Um estudo realizado por Silva e colaboradores (2020) identificou sete principais riscos técnicos e clínicos associados à preparação de formulações extemporâneas:

1. Falhas na formulação – podem estar associadas a interações do fármaco com excipientes, incompatibilidade física e degradação do fármaco (oxidação, por exemplo);
2. Contaminação microbiana – o conservante ideal deve ser escolhido levando em consideração características como o pH da formulação e a compatibilidade com o grupo de pacientes;

3. Erros de cálculo – representam o maior risco de dano ao paciente. Por isso, as preparações devem ser o mais simples possível e deve-se verificar e documentar todos os cálculos;

4. Material de partida – risco de toxicidade associado ao uso de alguns excipientes, especialmente em pacientes pediátricos;

5. Aceitação do paciente – o sabor está intimamente ligado à aceitação da formulação por pacientes pediátricos;

6. Riscos de saúde e segurança – deve-se dar importância aos riscos associados à saúde do operador. Para o manuseio de substâncias perigosas, é necessário o uso de cabine de fluxo laminar. Além disso, devem ser implementadas boas práticas de manipulação para impedir o risco de contaminação cruzada;

7. Fatores de riscos clínicos associados – deve-se revisar regularmente as condições clínicas dos pacientes que recebem preparações extemporâneas, pois, estes geralmente pertencem a grupos de pacientes vulneráveis.

3.3.1 Excipientes para a pediatria

Dificilmente os fármacos são administrados separadamente, normalmente eles integram uma formulação com diversos excipientes, os quais apresentam diferentes funções, como diluir, estabilizar, suspender, conservar, conferir odor, sabor e cor, entre outras atribuições, além de proporcionar a obtenção de uma forma farmacêutica estável, atrativa e eficaz para o fim proposto (SILVA et al., 2008). Por outro lado, os adjuvantes podem estar associados a reações adversas, que podem ser mais graves em crianças e neonatos, o que restringe as opções nessas preparações (VENTURA, 2011). Portanto, é necessário avaliar a segurança dos excipientes antes da elaboração de uma preparação pediátrica (ROUAZ et al., 2021).

Mascarar o sabor desagradável dos medicamentos parece ser uma das maiores barreiras no desenvolvimento de uma formulação pediátrica (BATCHELOR; MARRIOTT, 2013). Nesse sentido, o desenvolvimento de uma formulação em suspensão contribui para ocultar o sabor amargo do fármaco, pois este se encontra na forma de partículas não dissolvidas (ALLEN JR.; POPOVICH; ANSEL, 2013). Edulcorantes, como o sorbitol, a sacarose, a sacarina sódica e o manitol (LANG, 2018), são frequentemente utilizados para mascarar o sabor de formulações pediátricas. Contudo, alguns são contraindicados para crianças diabéticas, pois contêm açúcar e, além disso, podem propiciar o surgimento de cáries dentárias (BRASIL, 2010b). O sorbitol costuma ser utilizado como alternativa para pacientes

diabéticos, no entanto, pode estar associado ao surgimento de distúrbios gastrointestinais, como diarreia, e, por consequência, dificultar a absorção do fármaco (LANG, 2018). Formulações líquidas costumam apresentar altas concentrações de sacarose (50 a 67%), todavia, também são contraindicadas para uso em crianças diabéticas. Os sulfitos, antioxidantes utilizados em baixas concentrações (0,01 a 1%), são associados à hipersensibilidade, especialmente em crianças com distúrbios do aparelho respiratório. Os corantes também são aditivos bastante utilizados em formulações pediátricas, porém, devem ser evitados, visto que muitos são associados à hipersensibilidade e atividade hiperkinética em crianças (BRASIL, 2010b).

Muitos fármacos são lipossolúveis e, quando um comprimido é triturado ou uma cápsula é aberta com posterior dissolução em água, a forma farmacêutica obtida é uma suspensão. Nesse sentido, um dos principais desafios de formular uma suspensão é garantir sua estabilidade física, pois o material particulado tende a se depositar com o tempo. Para reduzir o índice de sedimentação, utilizam-se agentes suspensores, que diminuem a atração entre as partículas e aumentam a viscosidade da solução. Dessa forma, quando em repouso a sedimentação das partículas é dificultada pela viscosidade da formulação e sob agitação a viscosidade favorece boas características de fluxo (KULKARNI, SHAW, 2016). Além disso, parâmetros como a textura da formulação na cavidade oral, a aparência e a reologia do veículo também representam importante fator na aceitação da criança pela preparação (LOPEZ et al., 2018; EMEA, 2006). Nesse sentido, a goma xantana é um polissacarídeo bastante utilizado na indústria de alimentos e medicamentos, devido às características pseudoplásticas e boa estabilização, além disso, é solúvel em água e bastante estável em ampla faixa de pH (3-12) e temperatura (KULKARNI, SHAW, 2016; RUSSEL et al., 2015; FERREIRA et al., 2019). Alguns estudos têm demonstrado o uso da goma xantana como agente espessante em suspensões pediátricas obtidas por derivação farmacêutica (RUSSEL et al., 2015; SIVANESWARI et al., 2016; BARBOSA; PINTO, 2018).

Os solventes são adjuvantes utilizados para solubilizar outras substâncias presentes na formulação e podem ser de natureza aquosa ou oleosa. Dentre os mais utilizados destacam-se: o álcool etílico, a glicerina, o propilenoglicol, bem como, diversos óleos (LANG, 2018). O propilenoglicol, considerado um excipiente seguro, é comumente utilizado na concentração de 10 a 25% em soluções orais (CHMP, 2014) e sua adição à formulação pode melhorar a ação conservante do metilparabeno (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009). Entretanto, podem ocorrer efeitos colaterais em nível de sistema nervoso central em pacientes neonatos (BRASIL, 2010b), pois o tempo de meia vida do propilenoglicol é maior em neonatos do que

em adultos (MONTEIRO, 2013). Em relação a outros glicóis, o propilenoglicol parece ser o menos tóxico, possivelmente, devido às suas propriedades de metabolismo e excreção (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009).

Os conservantes antimicrobianos têm a função de preservar a estabilidade microbiológica das formas farmacêuticas, principalmente aquelas apresentadas nas formas líquidas aquosas (HAYWOOD; GLASS, 2013). Os mais empregados são o ácido benzoico e os parabenos (-butil, -etil, -metil e -propilparabeno) (VALENTE, 2014), porém, podem ser utilizados ainda o cloreto de benzalcônio, o álcool benzílico e o propionato de sódio, entre outros (LANG, 2018). O ácido benzoico é desaconselhado para pacientes pediátricos por causar reações alérgicas, anafilaxia e acidose metabólica, possivelmente, associadas ao acúmulo de ácido benzoico (VALENTE, 2014). Por outro lado, os parabenos apresentam amplo espectro de ação em extensa faixa de pH e têm sido empregados no desenvolvimento de formulações pediátricas. Formulações farmacêuticas orais costumam apresentar uma associação de metil e propilparabeno, devido ao efeito sinérgico apresentado por estes e, geralmente, em concentrações de 0.015 a 0.2 % para o metilparabeno e 0.02 a 0.06 % para o propilparabeno (EMA, 2015; SOUZA JR et al., 2014). Esses adjuvantes são seguidamente identificados em medicamentos prescritos para o tratamento de RNs em unidades de terapia intensiva neonatal, no entanto, a associação dos mesmos pode intensificar episódios de reações adversas a medicamentos (RAM), como reações de hipersensibilidade (SOUZA JR et al., 2014; TONAZIO et al., 2011).

3.4 DISSOLUÇÃO DE FÁRMACOS

Dissolução é o processo pelo qual as partículas de um fármaco se dissolvem em um determinado meio (AULTON, 2005). Fisiologicamente, a absorção de fármacos a partir de formas farmacêuticas sólidas administradas por via oral depende de sua liberação, da dissolução ou solubilização nos fluidos do sistema digestório e de sua permeabilidade através das membranas do trato gastrointestinal (SHARGEL; YU, 2005).

O teste de dissolução *in vitro* é usado pela indústria farmacêutica devido à capacidade de antecipar o potencial de liberação e biodisponibilidade de uma forma farmacêutica (DURDUNKIJI; ALKHATIB; AL-GHAZAWI, 2016). Assim, a análise de dissolução *in vitro* pode fornecer dados importantes para prever a biodisponibilidade *in vivo* de um medicamento (SHARGEL; YU, 2005), além de garantir a qualidade dos lotes, auxiliar no desenvolvimento de novas formulações e assegurar a uniformidade de dose (DURDUNKIJI;

ALKHATIB; AL-GHAZAWI, 2016; SHARGEL; YU, 2005). Entretanto, para prever o desempenho *in vivo*, são necessárias condições mais sofisticadas e compatíveis com o meio encontrado no trato gastrintestinal (DURDUNKIJI; ALKHATIB; AL-GHAZAWI, 2016). Nesse contexto, durante o desenvolvimento de um medicamento, objetiva-se associar os resultados obtidos a partir de testes de dissolução *in vitro* a resultados potenciais de absorção *in vivo*, sendo que essa semelhança entre os dados é chamada de correlação *in vitro-in vivo* (JANTRATID et al., 2008).

Para avaliar quando a correlação *in vitro-in vivo* pode ocorrer, pode-se utilizar o sistema de classificação biofarmacêutica (SCB), que é baseado na solubilidade e permeabilidade dos fármacos, que são classificados como (AMIDON et al., 1995; LINDENBERG et al., 2004):

- Classe I – alta solubilidade e alta permeabilidade
- Classe II – baixa solubilidade e alta permeabilidade
- Classe III – alta solubilidade e baixa permeabilidade
- Classe IV – baixa solubilidade e baixa permeabilidade

Até o momento não há definição quanto à classificação biofarmacêutica da sulfadiazina, devido aos dados conflitantes acerca de sua permeabilidade, sendo então descrita como sendo de classe II ou IV (LINDENBERG; KOPPB; DRESSMANN, 2004). Adicionalmente, o fármaco é descrito como praticamente insolúvel em água, muito pouco solúvel em álcool etílico, facilmente solúvel em soluções diluídas de hidróxidos alcalinos e solúvel em ácido clorídrico 3 M (FB 6, 2019).

As suspensões podem ser consideradas semelhantes às formas desintegradas de comprimidos e cápsulas, entretanto, menos do que 10% das monografias oficiais trazem o teste de dissolução como um requisito a ser avaliado para essas formulações (BREVEDAN; VARILLAS; VIDAL, 2012). Considerando a importância do teste de dissolução como estimativa da biodisponibilidade *in vivo*, da reprodutibilidade entre lotes e da estabilidade da formulação, o teste de dissolução será aplicado às suspensões desenvolvidas neste projeto, usando as condições descritas na monografia oficial para comprimidos. Porém, por tratar-se de outra forma farmacêutica, será necessária a revalidação do teste, de acordo com as diretrizes vigentes descritas no capítulo <1092> da United States Pharmacopeia (USP 39, 2016).

Entre os parâmetros que devem ser avaliados, constam resumidamente: *especificidade*, que visa garantir ausência de interferência de excipientes, outros fármacos ou produtos de degradação; *linearidade*, que deve contemplar faixa de concentração que inclua concentração abaixo e acima da menor e da maior concentração esperada no teste, respectivamente; *exatidão*, que visa avaliar a recuperação do analito a partir de soluções que mimetizem as condições usadas no teste, em ampla faixa de concentração, sendo aceitáveis valores entre 95 e 105% de recuperação; *precisão*, que visa demonstrar a repetibilidade do teste; *robustez*, que objetiva analisar o efeito de pequenas modificações nas condições do teste; *estabilidade das soluções analíticas*, que visa indicar o tempo em que as soluções do padrão e da amostra, armazenados em temperatura ambiente, mantêm o teor 98 a 102% do teor inicial. Também é relevante avaliar a adsorção do analito no material usado para a filtração das soluções, etapa necessária para remover excipientes insolúveis nas soluções sob análise (USP 39, 2016).

3.5 ESTUDOS DE ESTABILIDADE

Estabilidade é o período durante o qual o produto farmacêutico ou a matéria prima mantém sua composição química, física e microbiológica aceitável, durante todo o tempo de armazenamento e utilização (AULTON; TAYLOR, 2016). Para a obtenção de uma formulação oral líquida estável, deve-se avaliar a estabilidade química, física e microbiológica, considerando, além da substância ativa, os excipientes, o processo de fabricação e o material da embalagem a ser utilizada no produto (HAYWOOD, GLASS, 2013). Entretanto, poucos estudos descritos são relacionados à estabilidade de formulações obtidas através da transformação de formas farmacêutica, ademais, as diferentes técnicas e materiais utilizados podem ter interferência nos resultados encontrados (VENTURA, 2011).

Os ensaios realizados para avaliação da estabilidade de medicamentos podem ser de três tipos: estudo de estabilidade de longa duração, estudo de estabilidade acelerada e estudo de degradação forçada.

Os estudos de estabilidade de longa duração objetivam prever o prazo de validade da substância ativa ou do medicamento nas condições reais de armazenamento, assegurando a segurança e eficácia do produto durante todo o tempo de uso. Os ensaios são realizados, geralmente, a $30\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ e umidade relativa (UR) a $75\% \pm 5\%$ e devem ser realizados com o produto exato a ser utilizado pelo usuário (BRASIL, 2019c; AULTON; TAYLOR, 2016). Cabe ressaltar que outras temperaturas são previstas, para o caso de produtos que necessitam de temperaturas de armazenamento menores.

Os estudos de estabilidade acelerada buscam avaliar possíveis modificações físicas, químicas e microbiológicas de substância ativa ou medicamentos, por meio de condições forçadas de armazenamento, com o objetivo de auxiliar no estabelecimento de prazo de validade da substância ativa ou do produto farmacêutico e verificar o efeito de curtos períodos fora dos cuidados de conservação recomendados. Os estudos são conduzidos em temperaturas mais elevadas em comparação ao estudo de longa duração ($40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) e mesma umidade relativa ($75\% \text{ UR} \pm 5\% \text{ UR}$), de modo a exceder os efeitos de temperatura e umidade em condições que possam ocorrer durante o armazenamento e o transporte (BRASIL, 2019c). As condições desse teste possibilitam a representação de um ambiente razoavelmente estressante, dessa forma, possíveis problemas de estabilidade serão detectados mais rapidamente (AULTON; TAYLOR, 2016).

Também é possível realizar estudos de estabilidade em condições ainda mais severas do que as utilizadas nos estudos de estabilidade acelerada, esses são chamados de estudos de degradação forçada. Este estudo permite gerar produtos de degradação através da exposição da substância ativa ou do produto farmacêutico a condições de estresse, como temperatura, calor, luz, umidade, hidrólise básica e/ou ácida, oxidação, entre outras. Essa técnica é utilizada para o desenvolvimento e a validação de métodos indicativos de estabilidade e para avaliação de prováveis produtos de degradação (BRASIL, 2019c).

A avaliação da estabilidade química de uma formulação oral deve considerar o potencial de degradação do fármaco por meio de reações de hidrólise, oxidação, fotólise ou termólise, bem como, possíveis interações entre o fármaco, os excipientes na forma farmacêutica original, os excipientes no veículo e a embalagem utilizada. No caso de suspensões, analisar a ressuspensão, a eficiência em administrar uma dose precisa, viscosidade, tamanho de partícula e o possível surgimento de cristais durante o armazenamento são fatores importantes para avaliação da estabilidade física da formulação.

O estudo microbiológico deve incluir a escolha adequada do conservante antimicrobiano com resistência capaz de preservar a formulação preparada, majoritariamente, à base de água (HAYWOOD, GLASS, 2013). Nesse sentido, um estudo desenvolvido por Salgado e colaboradores (2005) avaliou a estabilidade microbiana de suspensões orais de espirolactona à base de xarope simples (com e sem adição de conservante) e evidenciou a importância do uso deste adjuvante, pois, mesmo mantendo as formulações armazenadas a baixas temperaturas, a formulação livre de conservante apresentou contaminação microbiana. após 3 dias de armazenamento em temperatura ambiente, o que poderia causar infecção nosocomial em RNs e crianças com sistema imunológico comprometido. Além disso, a

contaminação microbiana em preparações líquidas não estéreis pode alterar a palatabilidade e a aparência e causar odor desagradável e turbidez (PROVENZA et al., 2014). Diante disso, a determinação da estabilidade de formulações preparadas a partir de derivação farmacêutica é de grande importância, principalmente, devido à restrição de informação sobre o assunto.

Diante dos poucos relatos encontrados em relação ao desenvolvimento de formulações pediátricas contendo SDZ e às limitações dos excipientes empregados nos estudos já publicados, torna-se relevante a busca por novas preparações extemporâneas de fácil preparo e de boa estabilidade. Além disso, é importante considerar o potencial de toxicidade dos excipientes, selecionando aqueles que sejam adequados e com baixo risco de causar efeitos adversos à faixa etária destinada. Por fim, ainda são restritas as informações sobre a estabilidade de formulações preparadas através de derivação farmacêutica, sendo importante a completa caracterização das formulações ao longo do tempo destinado para uso.

DEVELOPMENT AND STABILITY STUDY OF SUSPENSIONS OF SULFADIAZINE FOR PEDIATRIC USE

4.1 Apresentação

Nesta seção é descrito o desenvolvimento de suspensões orais de SDZ, além do desenvolvimento de método indicativo de estabilidade por UPLC-UV para o doseamento das formulações. Para isso, duas formulações extemporâneas foram preparadas a partir da trituração de comprimidos e da matéria-prima de SDZ. As suspensões contendo 100 mg/mL de SDZ foram doseadas utilizando a técnica de UPLC e avaliadas quanto às suas características físicas, químicas e microbiológicas, durante 30 dias. Os testes utilizados para a avaliação físico-química foram: avaliação do pH, da viscosidade, da microscopia óptica e do tamanho e morfologia das partículas. Em relação à estabilidade microbiológica, avaliaram-se a contagem de micro-organismos mesofílicos e a ausência de *E. coli*, seguindo as recomendações da Farmacopeia Brasileira, 6^a edição (2019). As formulações foram armazenadas sob refrigeração, em temperatura de $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, e o teste foi conduzido pelo período de 30 dias.

Development and stability study of sulfadiazine suspensions for pediatric use

Micheline Silva Dias¹, Amanda Maccangnan Zamberlan², Rebeca Lino Lourenço², Emanuele Saul Saraiva², Julya Sarmiento Neis¹, Luana Mota Ferreira¹, Andréa Inês Horn Adams¹.

¹ Post-graduation Program in Pharmaceutical Sciences, Federal University of Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil.

² Department of Industrial Pharmacy, Federal University of Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil

Address all correspondence to Prof. Dr. Andréa I. H. Adams. Federal University of Santa Maria – UFSM. Av. Roraima, 1000. Santa Maria/RS - CEP 97105-900. Tel.: +55 55 3220 8661 Fax: +55 55 3220 8248. E-mail: andrea.ih.adams@gmail.com

Corresponding author:

Prof. Dr. Andréa I. H. Adams

Federal University of Santa Maria – UFSM. Av. Roraima, 1000. Santa Maria/RS - CEP 97105-900.

Tel.: +55 55 3220 8661 Fax: +55 55 3220 8248.

E-mail: andrea.ih.adams@gmail.com

Background: Brazil is one of the countries with the highest prevalence of congenital toxoplasmosis in the world and the treatment of the infection is done through the association of sulfadiazine (SDZ), pyrimethamine and folinic acid. However, SDZ is commercially available only as tablets, which turns difficult the treatment of children. **Objective:** To determine the physical, chemical and microbiological stability of sulfadiazine (SDZ) suspensions for pediatric use, stored under refrigeration for 30 days. **Methods:** SDZ suspensions were prepared from the active pharmaceutical ingredient (API) (A) or from the crushed tablets (B). An analytical method by ultra-performance liquid chromatography was developed and validated for the quantification of SDZ in samples. The organoleptic characteristics, pH, particle size and morphology, viscosity, drug content, dissolution and microbial contamination were performed according to pharmacopoeial specifications. Three batches were prepared and stored under refrigeration ($5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$) and the analyzes were performed at 0, 14 and 30 days, with the exception of the dissolution test, which was performed only at the initial and final times of the study. **Results:** The preparations had acceptable organoleptic properties. The pH of both formulations remained within the neutrality range, without showing significant statistical variation over the period evaluated. Formulation B presented a significantly larger particle size ($50.63 \pm 2.65 \mu\text{m}$) compared to formulation A ($35.2 \pm 5.26 \mu\text{m}$), in addition, there was a variation in particle size between the evaluated times. Regarding of the particles morphology, it was possible to observe the presence of crystals in suspension A, which were attributed to the API, even so, these particularities remained unchanged during the study. Both suspensions A and B were shown to be non-Newtonian fluids and there was no significant variation in their viscosity during the evaluated period. The 30-day chemical stability of the formulations was proven, as both maintained levels around 100% during the study. Additionally, the formulations showed dissolution of more than 80% in 15 minutes and there was no significant difference when compared to the percentage of SDZ dissolved at the end of the research. Microbial growth was $<10 \text{ CFU/mL}$ in both preparations and the presence of *Escherichia coli* was not detected. **Conclusions:** The suspensions developed in this study presented physical, chemical and microbiological stability of 30 days, when stored under refrigeration, and may be a viable alternative for the treatment of congenital toxoplasmosis.

Keywords: Pediatric formulation. Sulfadiazine. Suspension. Congenital toxoplasmosis.

1 Introduction

Toxoplasmosis is an infection caused by the protozoan *Toxoplasma gondii* and is a common zoonosis throughout the world (BRAZIL, 2019a). Human contamination occurs mainly through the ingestion of food or water contaminated with the parasite, however, the infection can also occur through congenital transmission during pregnancy (BRASIL, 2019b). Although the woman may be asymptomatic, there may be serious consequences for the fetus, such as diseases of the nervous system and eyes. In addition, the stage of pregnancy is associated with the risk of transplacental transmission and the severity of the disease in the fetus (CDC, 2020). Therefore, it is important to investigate the stage of pregnancy, in order to treat the mother infection properly, to avoid congenital transmission (BRASIL, 2011; MARTINS et al., 2019).

The first-choice treatment for congenital toxoplasmosis is the combination of sulfadiazine (SDZ) and pyrimethamine, with folinic acid supplementation that is used to prevent spinal cord aplasia caused by pyrimethamine (MARTIN, 2011). However, all of these antiprotozoal drugs are available commercially only as tablets, which limit their use in children under six years of age, due to difficulty in swallowing solid oral dosage forms (MARTIN, 2011; VALENTE, 2014).

Although there are several physiological changes involved in the development of newborns (NB) and children, which can interfere in the safety and efficacy of pharmacological treatments, most drugs produced are tested only in adults, which can lead to unforeseen results in the pediatric public (FERNANDEZ et al., 2011; PEREIRA et al., 2016). In addition, the scarcity of specific products for pediatric patients and the difficulties associated to the administration of oral solid dosage forms contribute to the off-label use of drugs, which means different indication, dosage and pharmaceutical form than those approved by the regulatory agencies and/or not declared in the medicine package insert. The *off-label* use of drugs may require dose adjustments and extemporaneous formulation based on available drug products (BRASIL, 2012a; VALENTE, 2014; KOSZMA et al., 2021). The literature reports that more than half of the NBs in the neonatal intensive care unit (ICU) received at least one prescription in conditions different from those authorized by regulatory agencies, reaching 100% of the patients when premature NBs and surgical patients are considered (ALONSO et al., 2019). In the ICU pediatric 23.4% of the prescribed drugs included off-label use and 12.6% were unlicensed drugs (FERREIRA et al., 2012),

highlighting the need to strengthen the available information about the use of drugs in neonates and to monitor adverse effects (ALONSO et al., 2019; FERREIRA et al., 2012).

Among the main strategies used to provide the oral drug administration in children and neonates is the preparation of oral liquid dosages forms by crushing tablets or opening capsules, followed by solubilization or suspension in water, food or other beverages (SILVA et al., 2020; STORPIRTIS et al., 2008). The preparation of the ideal pediatric formulation involves the dose accuracy, the pharmaceutical form more convenient to the age and the right choice of excipients, including their concentration (LAM et al., 2013). The main problems associated with the preparation of extemporaneous formulations for pediatric use include formulation errors, microbial contamination, miscalculations and patient acceptance (SILVA et al., 2020).

Furthermore, it is important that such formulations have adequate characteristics in order to provide safe administration. For this, it is necessary to evaluate the physical, chemical and microbiological characteristics of the formulations, taking into account the active substance, the excipients, the production process and the package used in the final product, to ensure that a stable liquid oral formulation will be obtained (HAYWOOD; GLASS, 2013).

In such context, the literature reports studies that evaluate the stability of SDZ in suspension prepared by crushing tablets or drug powder and dispersed in water for injection (PATHMANATHAN et al., 2004), commercial vehicles (FERREIRA et al., 2016) and simple syrup and sorbitol (COSTA et al., 2020). However, these formulations have some limitations, such as the short shelf life and the use of excipients not recommended for pediatric formulations. In this scenario, the purpose of the current study was to design a simple SDZ liquid formulation suitable for pediatric use, prepared from crushed commercial tablets or from active pharmaceutical ingredient (API), and to determine the chemical, physical and microbiological stability of the preparations.

2 Materials and methods

2.1 Chemicals and reagents

SDZ standard ($\geq 99,0\%$, CAS 68-35-9) was purchased from Sigma-Aldrich® (São Paulo, Brazil). Sulfazina® tablets 500 mg (lot 703725, Sobral Laboratory, Florianópolis, Brazil) was acquired in the local commerce. Sodium saccharin was obtained from Vetec® and methylparaben was purchased from Dellavare®. Xanthan gum was received as a donation from the CPKelco®. The strawberry essence was acquired from the local trade. Propylene

glycol was obtained from the Dinâmica[®]. Ultrapure water was purified by Megapurity Water Purification System. Reagents used in the study included: acetonitrile (ACN) (Merck, Germany), acetic acid (Vetec Química Fina, Rio de Janeiro, Brazil), sodium hydroxide (Merck (Darmstadt, Germany), hydrogen peroxide and hydrochloric acid (Alphatec, Brazil). All chemicals and solvents were used as received.

2.2 Preparation of SDZ oral suspensions

SDZ suspensions at a concentration of 100 mg/mL were prepared from the API (suspension A) or crushed tablets (suspension B) by the mortar/pestle method (Table 1). The preparation started by crushing SDZ, xanthan gum and sodium sacharin to a fine powder. Then, the methylparaben preservative solution, the strawberry essence and part of the vehicle (water) were added and mixed until a smooth paste was formed. Finally, it was dispersed until obtaining the desired volume (100 mL). The preparations were homogenized, transferred to amber glass bottle, and stored under refrigeration ($5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$).

Table 1 – Composition of SDZ 100 mg/mL oral suspensions, prepared from API (A) or from crushed tablets (B)

Components	Suspension A	Suspension B
SDZ	API, 10 g	SDZ crushed tablets (n=20)
Suspending agente		Xanthan gum, 0.4 g
Preservative		Methylparaben solution*, 2.0 mL
Sweetners		Sodium saccharin, 0.2 g; strawberry essence
Solvent		Purified water (enough to 100 mL)
Phosphate buffer pH 8.5		Enough to pH 7.0

*Methylparaben solution was prepared in propylene glycol, at 100 mg/mL.

The adjustment of the pH formulation to 7.0 was defined by a preliminary stability study, where the pH of SDZ suspensions was fixed at 4.0, 5.0, 6.0 and 7.0 (with acetate buffer) or 8.0 (with borate buffer) (FB 6, 2019a). The preparations were stored under refrigeration ($5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$) and the drug content was analyzed over 14 days. Better results were shown by the formulations with pH 7.0.

2.3 Analytical procedure

2.3.1 Instrumental and method

The analytical method was developed in an Ultra Performance Liquid Chromatography equipment (UPLC) (Japan, Shimadzu), equipped with a binary gradient pump (LC-20A), a photodiode array detector (SPD-M20A), an auto-sampler (SIL-20AC), a column oven compartment (CTO-20AC) and a communication module with the computer (CBM-20A). The general analytical conditions followed a previously reported method (COSTA et al., 2020), with modifications. Separation was achieved at a C18-column, 2.1 x 50 mm i.d., particle size 2 μm (GIST-HP (G), Shimadzu, Japan) coupled to a C18-guard column (2.1 x 10 mm i.d., particle size 2 μm , Shimadzu, Japan). A gradient method was developed, using mobile phase A (ultrapure water acidified with glacial acetic acid, pH 4.0) and mobile phase B (acetonitrile). The ratio of mobile phase A:B was adjusted as follows: 0 to 3 minutes, 85:15; 3 to 5 minutes, 75:25 and 5 to 8 minutes, 85:15. The total running time was 8 min. The flow rate was 0.20 mL/min, the wavelength detection 267 nm, the injection volume 1 μL and the oven temperature 25°C. All solvents were filtered through a 0.22 μm nylon membrane and degassed before the analysis.

2.3.2 Preparation of the standard and samples solution

The SDZ standard stock solution at 1 mg/mL was prepared by dilution in 0.025 M NaOH, with further dilution in diluent solution to a final concentration of 10 $\mu\text{g/mL}$. To prepare the sample solutions, the relative density was previously determined using a pycnometer, at 20 °C (FB 6, 2019a). Then, an amount equivalent to 10 mg of the suspension was weighed and diluted to 1 mg/mL with 0.025 M NaOH, followed by sonication (5 minutes), and then dilution with the diluent solution to a final concentration of 10 $\mu\text{g/mL}$. The diluent solution was composed by a mixture of ultrapure water acidified with glacial acetic acid (pH 4.0) and acetonitrile (85:15, v/v).

2.3.3 Validation of UPLC method

The UPLC method was validated according current guidelines (BRASIL, 2017; ICH, 2005), following the parameters of selectivity/specificity, linearity, limits of detection (LOD) and quantification (LOQ), precision (repeatability and intermediate precision), accuracy and robustness. The method validation was performed using only formulation B, because it has the more complex matrix.

The method selectivity was determined by the forced degradation study, exposing the formulations to different stress conditions, as acidic (1M HCl, 5 days) and basic hydrolysis (1M NaOH, 5 days), oxidation (35% v/v H₂O₂, 1 day), thermolysis (60 °C, 5 days) and photolysis (UV-A, 352 nm and UV-C, 254 nm, 1 day). The generation of degradation products was monitored, as well as the SDZ peak purity index in each chromatogram. Besides, a placebo sample was also analyzed, which was prepared using all tablets excipients (starch, talc, magnesium stearate, croscarmellose sodium and microcrystalline cellulose) in amounts usually employed in these formulations (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009) and also the excipients used in oral suspension developed. The placebo solution was diluted using the same procedure of the sample solution.

Linearity was assessed by the analysis of three independent analytical curves, at seven concentration levels (1, 2.5, 5, 10, 15, 20 and 25 µg/mL). The data were fitted and analyzed for regression and linearity deviation by ANOVA. LOD and LOQ values were estimated based in standard deviation of the y-axis intercepts of regression analysis (σ) and mean slope (α) and were calculated from the following equations: $LOD = 3.3 (\sigma/\alpha)$ and $LOQ = 10 (\sigma/\alpha)$ (ICH, 2005).

Precision was assessed at the level of repeatability, by analyzing six independent sample solutions at 10 µg/mL, and intermediate precision, by the analysis of other six samples in a different day, by a second analyst. The SDZ content in each sample solution was determined (%) and the relative standard deviation (RSD) between them was calculated. RSD values lower than 2.0% were considered acceptable (SHABIR, 2003).

The accuracy was determined by the recovery method, adding known amounts of standard solution to the sample solution, in concentrations equivalent to 80, 100 and 120% of the working concentration (10 µg/mL), obtaining final concentrations of 8, 10 and 12 µg/mL, respectively. The difference between the results found in the non-spiked sample solution must correspond to the amount of standard added at each level. A recovery interval of 98 to 102% was considered acceptable (SHABIR, 2003).

To verify the effect of variation in the analytical factors over the assay, small modifications in the optimized chromatographic conditions were performed, as following: pH value (± 0.5 pH unit around the fixed value), flow rate of mobile phase (± 0.01 around the fixed value) and the oven temperature (± 1 °C around the optimized value). The SDZ assay and chromatographic parameters such as retention time (RT), number of theoretical plates (N), asymmetry (A), capacity factor (K') were evaluated.

2.3.4 Validation of dissolution test

The general dissolution test was conducted at a dissolution manual equipment (mod. 299, Nova Ética, Brazil), using paddle (USP Apparatus 2) at 50 rpm and 900 mL of dissolution medium (0.1 M HCl) maintained at 37 ± 0.5 °C (USP 39, 2016; FB 6, 2019b). The quantitation was performed by the developed UPLC method to avoid the methylparaben interference, observed in preliminary tests when the UV spectrophotometry assay (official method) was used (*data not shown*). The chromatographic analysis was performed as previously described and the dissolution test was revalidated according USP guidelines (USP 39, 2016), evaluating the following parameters: specificity, linearity, accuracy and precision.

Specificity was assessed by the analysis of placebo solutions of suspension B that was prepared as described previously (*section 2.3.3*). An aliquot of 5 mL of the placebo were transferred to vessels (n=3) containing 900 mL of dissolution medium at 37 ± 0.5 °C and stirred for 60 minutes at 150 rpm. After this period, the aliquots (10 mL) were removed, successively diluted with 0.1 M HCl, 0.025 M NaOH and diluent solution, respectively, and analyzed by UPLC. The SDZ-peak purity index of 0.999 indicated that there was no co-migration of the placebo components with SDZ peak, showing the specificity of the method. Specificity was assessed by analyzing placebo solutions of suspension B which was prepared as described above (*section 2.3.3*). A 5 ml aliquot of the placebo was transferred to containers (n=3) containing 900 ml of dissolution medium at 37 ± 0.5 °C and shaken for 60 minutes at 100 rpm. After this period, aliquots (10 mL) were removed, successively diluted with 0.1 M HCl, 0.025 M NaOH and mobile phase, respectively, and analyzed by UPLC. Furthermore, the stability of SDZ in dissolution medium was evaluated, using a stock solution in 0.1 M HCl, kept for 48 h at room temperature and, subsequently, the aforementioned dilutions were continued and the sample was analyzed in UPLC. The purity index of the SDZ peak of 0.999 indicated that there was no co-migration of the placebo components with the SDZ peak, showing the specificity of the method, as well as the content of the sample solution in the dissolution medium remained close to 100%, proving that the SDZ is stable for 48h in 0.1 M HCl.

Linearity was evaluated by the analysis of three SDZ calibration curves with 5 concentration levels in the range of 3, 6, 9, 12 a 15 µg/mL. The concentration range corresponds to $\pm 20\%$ below or above the lowest and the highest expected concentration, in that order, which were obtained from the analysis of a dissolution profile. To obtain them, a standard stock solution of 1 mg/mL SDZ was diluted in 0.025M NaOH, with further dilution

in dissolution medium and final dilution in diluent solution. Linearity was estimated by means of analysis for regression and linearity deviation, using ANOVA. Linear regression was verified, and the equation obtained was $y = 22824x + 2214.2$, with a correlation coefficient (r) of 0.999. The ANOVA indicated linear regression ($F_{\text{calculated}} = 8477.2186 > F_{\text{critical}} = 4.96$) without linearity deviation ($F_{\text{calculated}} = 0.2520 < F_{\text{critical}} = 3.71$). These results demonstrated the method linearity in the range studied.

Accuracy of the dissolution method was assessed by recovery of known amounts of SDZ standard stock solution added to the placebo. Aliquots of SDZ standard stock solution equivalent to 180, 500 and 585 mg were added to each vessel containing 5 mL of placebo and dissolution medium, preheated at 37 ± 0.5 °C and rotated at 50 rpm, as recommended by USP guidelines (USP 39, 2016), for 120 min. At the end, 10 mL were withdrawn and successive dilutions were made in 0.1 M HCl, 0.025 M NaOH and diluent solution, respectively, obtaining final concentrations of 4, 11.1 and 13 µg/mL. Finally, the samples were filtered through a 0.22 µm membrane and analyzed by UPLC. The analyses were done in duplicate for each concentration level. The results obtained from the accuracy assay were used to analyze the precision at the repeatability level and intermediate precision, based on the RSD values. As results, recovery values of 99.23 ± 0.59 , 97.31 ± 1.48 and 95.96 ± 0.15 for the three concentration levels were observed, as well as RSD values $< 2.0\%$ (Supplementary Material; Table S1). Furthermore, the low R.S.D value (2.21%) obtained in the intermediate precision analysis confirms the method's precision (Supplementary Material; Table S2). These data are in accordance to the USP requirements (recovery range of 95-105%) and indicated the accuracy and the precision of the method (USP 39, 2016).

2.3.5 Validation of microbiological counting method

Previously to the microbiological evaluation of the formulations, a validation was performed to ensure that the antimicrobial action of SDZ and methylparaben would not interfere in the further microorganism's detection in the samples. For this, the formulations were diluted in phosphate buffer pH 7.2 containing polysorbate 80 (3% v/v) (FB 6, 2019a) and PABA (1:1 ratio of SDZ:PABA) (COSTA et al., 2020). The neutralizing action and absence of toxicity of PABA and polysorbate 80 for microorganisms were evaluated by measuring their recovery, using suspensions of test strains containing around 100 CFU of *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Escherichia*

coli (ATCC 8739) and *Candida albicans* (ATCC 10231). Soybean-Casein Digest Agar was used for bacteria count, with incubation at 30–35°C for 4 days, while Sabouraud dextrose agar medium was employed only for *Candida albicans*, incubated at 20–25°C for 5 days.

The recovery of microbial growth was investigated in three different test groups: (1) inoculum; (2) inoculum in the presence of neutralized sample and (3) inoculum in the presence of neutralizing agents. The growing comparison between groups (1) and (2) showed the neutralization effectiveness, while the comparison between (1) and (3) demonstrated no toxicity of the neutralizing agents. A minimum microbial recovery of 50% was considered satisfactory (FB 6, 2019a). The suitability of the proposed method was proved through microbial recovery ranging from 97.50% to 161.22% of all the microorganisms tested demonstrating the effectiveness and absence of toxicity of the neutralizing agents (Supplementary Material; Table S3).

2.4 Stability study

The SDZ suspensions A and B were prepared as described in *section 2.2*, which were stored in a refrigerator ($5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$) for 30 days and at predetermined times (0, 14 and 30 days), aliquots were collected and physical, chemical and microbiological analyzes were performed.

2.4.1 Physical stability

The physical stability was evaluated by visual inspection of organoleptic characteristics (color, odor, cake formation), pH determination, particle size, morphology and viscosity analysis. The pH was determined using a calibrated potentiometer (Denver Instrument, Brasil), which was directly immersed in the formulations. The particle size was evaluated by laser diffraction (Mastersizer 2000, Malvern Instruments Ltd., United Kingdom) dispersing an amount of the formulations in distilled water until laser obscuration reached a range of 10-15%. The particle size was expressed by the average diameter based on the volume ($d_{4.3}$). The morphology of the SDZ particles suspended in the formulation was verified by analysis under an optical microscope (Olympus, Japan) with a digital camera (10x objective lens). For the rheological analysis, a Brookfield viscometer (Brookfield, USA) was used, with S63 spindle. Approximately 34 mL of each formulation was added to the collection vessel and subjected to different rotation speeds (1.5, 3, 6, 12, 30, 60 and 100 rpm) at room temperature ($25 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$). The device provides a viscosity value expressed in centiPoise (cP).

2.4.2 Chemical stability

The quantification of SDZ content was determined using the validated UPLC method and samples were prepared as described at *section 2.4*. The criterion used in the evaluation was the percentage of content recovered in relation to the initial time and a recovery between 95 and 105% was considered acceptable.

2.4.3 Dissolution test

The dissolution test was performed using paddle apparatus at 50 rpm and 900 mL of dissolution medium (0,1 M HCl) kept at 37 ± 0.5 °C (USP 39, 2016; FB 6, 2019b). An aliquot of 5 mL of the suspension were placed in each vessel and stirring for 120 minutes. At predetermined times (2, 4, 6, 8, 10, 15, 30, 60 and 120 minutes), samples (10 mL) were withdrawn and filtered and then, successive dilutions were carried out in 0.1 M HCl, 0.025 M NaOH and diluent solution. Finally, samples were filtered through a 0.22 μ m membrane and analyzed by UPLC.

2.4.4 Microbiological stability

The microbiological evaluation of formulations was carried out according to the methods of nonsterile products of the 6th Edition of the Brazilian Pharmacopoeia (FB 6, 2019a), using Soybean-Casein Digest agar for total aerobic bacteria count, and Sabouraud Dextrose agar for total molds and yeasts count. The formulations were diluted in phosphate buffer pH 7.2 containing polysorbate 80 at 3% (v/v) and PABA (ratio 1:1 of SDZ:PABA), aiming to obtain dilutions 10^{-1} , 10^{-2} and 10^{-3} . One milliliter of each dilution was transferred to sterile petri dishes ($n=2$ /dilution) and then, approximately, 20 mL of sterile culture medium, kept at 45°C, were added. After solidification, the plates were inverted and incubated during 3 days, at 32.5 ± 2.5 °C, and 5 days, at 22.5 ± 2.5 °C, for aerobic bacteria or molds and yeasts growing, respectively. For pathogen research, Soybean-Casein Digest broth and MacConkey broth, named broth I and II, respectively, and MacConkey agar were used. The formulations and neutralizers were added to 100 mL of sterile broth I, which was incubated at $30-35 \pm 2.5$ °C, for 24 h. An aliquot of 5 mL were transferred from broth I to 45 ml of sterile broth II and allowed to incubate at $42-44 \pm 2.5$ °C, for 48 h. Finally, an aliquot sterile broth II was transferred to a petri dish containing about 20 mL of sterile MacConkey agar already

solidified. Afterwards, the plates were inverted and incubated at $30-35 \pm 2.5$ °C, for 72h. Negative controls and environmental controls were carried out to verify the experimental conditions. After the incubation, the number of colony-forming units (CFU) was registered. The requirements are total aerobic microbial count $\leq 10^2$ CFU/mL, total combined yeasts/moulds $\leq 10^1$ CFU/mL and the absence of *Escherichia coli* (FB 6, 2019a).

2.5 Statistical analysis

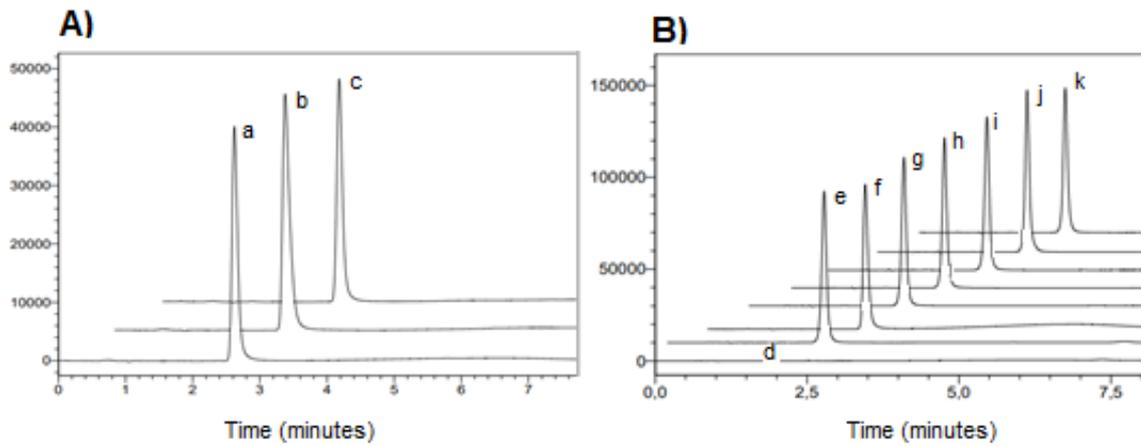
Formulations and analytical samples were prepared and analyzed in triplicate and the results expressed as mean \pm standard deviation (S.D.). The GraphPad Prism® version 8 software was used to perform the tests, using two-way analysis of variance (ANOVA) followed by *post hoc* test Tukey's. Values of $p < 0.05$ were considered statistically significant.

3 Results

3.1 UPLC validation

In order to optimize the previously developed chromatographic method (COSTA et al., 2020), an analytical method was validated. We used a gradient elution that allowed a fast and efficient separation of SDZ and methylparaben.

Figure 1A shows typical chromatograms obtained using the optimized conditions where can be observed the SDZ peak at 2.6 minutes. It should be emphasized that, due to the difference in concentration between SDZ and paraben, the latter is detectable only when concentrated solutions are analyzed, presenting retention time of 7.33 minutes (*data not shown*). Figure 1B presents the chromatograms of the specificity study and the placebo suspension. The high stability of SDZ was observed under various stress conditions. There was no significant degradation when it was exposed to basic, acidic and thermal conditions (Table 2). A degradation around 8.5% was observed in the oxidative condition and of 2.6% under UV-C radiation, however, no extra peaks were detected in the chromatograms. Additionally, there was no interference in the quantification of SDZ, a result confirmed by the chromatogram of the placebo suspension. It should be noted that it was not possible to reveal the hydrogen peroxide peak, due to the successive dilutions used for sample preparation. The SDZ peaks obtained in all chromatograms were subjected to peak purity analysis (>0.9999), confirming that no coelution occurred. The method was considered specific for the determination of SDZ in the developed formulations (figure 1B).



Figures 1. A) Typical chromatograms of the analysis solutions obtained using the optimized conditions: a) SDZ standard stock solution; b) Suspension A; c) Suspension B. **B)** Chromatograms of specificity test: d) placebo, e) sample without exposure, f) sample exposed to 35% H₂O₂, 5 days, g) sample exposed to UV-A radiation, 1 day, h) sample exposed to UV-C radiation, 1 day, i) sample exposed to 1M HCl, 5 days, j) sample exposed to 1M NaOH, 5 days and k) sample exposed to heat 60 °C, 5 days.

Table 2. Residual SDZ content after exposure of suspension B to different stress conditions.

Stress condition	Exposure time (days)	Residual content (%)
		Mean ± S.D
H ₂ O ₂ 35%	1	91.48 ± 1.25
UV-A	1	102.07 ± 0.05
UV-C	1	97.44 ± 0.99
HCl 1 M	5	100.42 ± 0.08
NaOH 1 M	5	99.64 ± 1.11
Heat 60°C	5	100.07 ± 0.04

The linearity of the method was confirmed in the range of 10 to 250% of the usual concentration by the calibration curves, where it was obtained a linear equation of $y = 22482.7x - 2885.6$, with correlation coefficient of $r=0.9996$. Analysis of variance (ANOVA) indicated that there was linear regression ($F_{\text{calculated}}=35116.57 > F_{\text{critical}}=4.6$), without linear deviation ($F_{\text{calculated}}=1.63 < F_{\text{critical}}=2.96$). The LOD and LOQ were 0.306349 µg/mL and 0.928329 µg/mL respectively.

The precision parameter was evaluated through repeatability and intermediate precision. Six samples were prepared from suspension B by two analysts on two different days and a relative standard deviation (R.S.D.) <2% was obtained both intra and interday, demonstrating the precision of the method (Table 3). Accuracy was determined using the recovery method, and recovery values between 98 and 102% were considered adequate. At the three concentration levels, recovery values between those accepted values were obtained, confirming the method accuracy.

In the robustness evaluation, changes in mobile phase flow, aqueous phase pH and column oven temperature showed that even when few changes in chromatographic parameters were observed they still obey the recommended values. Theoretical plates varied from 4.264 to 5.292, the asymmetry ranged from 1.32 to 1.67, the capacity factor from 1.68 to 2.81 and the SDZ retention time from 2.46 to 2.68 minutes (Supplementary Material; Table S4). Also, the modifications did not compromise the SDZ assay, that ranged from $97.74 \pm 0.42\%$ to $100.45 \pm 1.32\%$. Therefore, the changes made in the factors studied did not modify the analytical response, indicating the method robustness.

Table 3 – Precision and accuracy data of UPLC method.

Precision			
Drug content (%)		Mean \pm S.D.	R.S.D (%)
Day 1, analyst A, n=6			
1	96.48	96.12 ± 1.55	1.62
2	95.59		
3	98.85		
4	94.57		
5	94.81		
6	96.42		
Day 2, analyst B, n=6			
1	95.40	95.20 ± 0.60	0.63
2	95.54		
3	95.44		
4	95.61		

5	94.01				
6	95.20				
	Mean ± S.D.^a		95.66 ± 1.22		1.28
Accuracy					
Level (%)	Concentration added (µg/mL)	Recovery concentration (µg/mL)	Recovery (%)	Mean ± S.D.^b	R.S.D. (%)
80	3	2.96	98.79	100.79 ± 1.82	1.88
	3	0.04	101.23		
	3	3.07	102.34		
100	5	5.13	102.63	101.86 ± 0.68	0.66
	5	5.07	101.36		
	5	5.08	101.58		
120	7	7.17	102.47	101.41 ± 1.46	1.44
	7	7.14	102.02		
	7	6.98	99.75		
	Mean ± S.D.^c			101.35 ± 1.30	1.28

Mean ± S.D.^a: n = 12; Mean ± S.D.^b: n = 3; Mean ± S.D.^c: n = 9.

3.2 Stability study

Two liquid oral suspensions of SDZ were prepared and studied over 30 days. One was produced from SDZ API (formulation A) and the other was compounded from the grinding of SDZ tablets (formulation B), both at the same concentration of 100 mg/mL. The both SDZ suspensions were white, with characteristic odor of the essence used in the formulation and there was no precipitates or lumps presence during the study. Suspension A and B presented pH values around 7.0 during all storage period, without significant statistical variation ($p > 0.05$).

Table 4. Results of pH, SDZ content and particle size of suspensions A and B over 30 days of study.

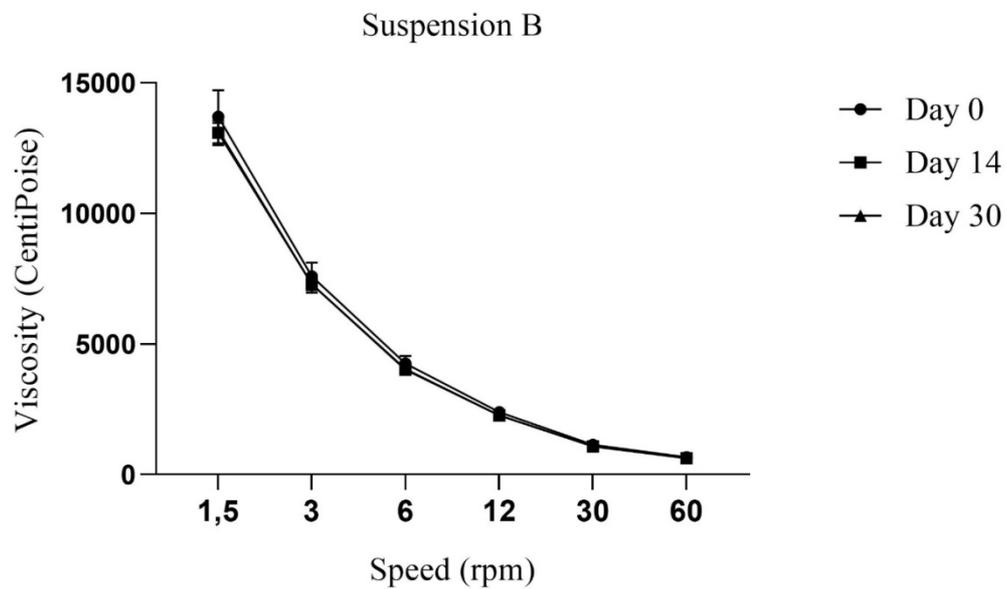
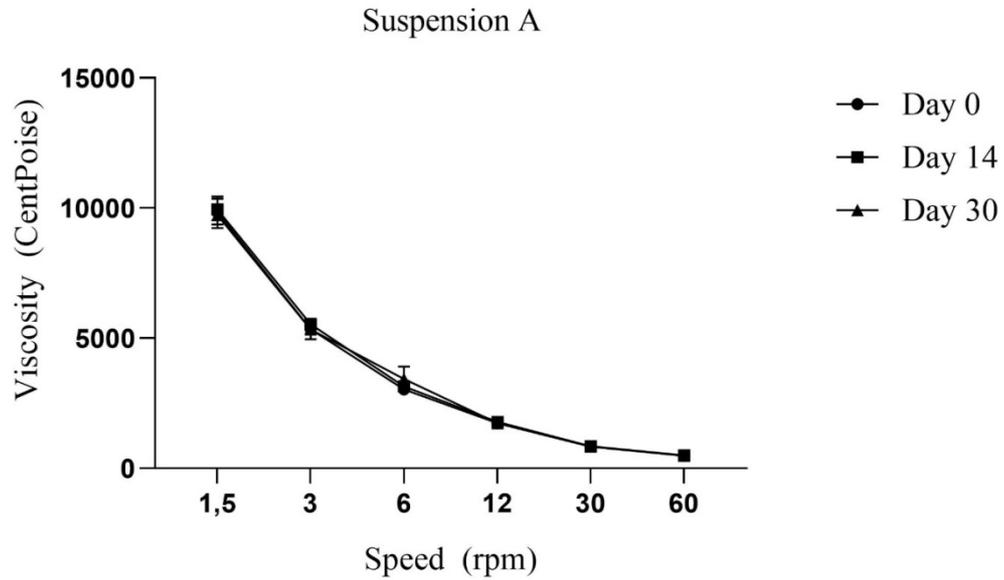
Time (days)	pH	Drug content (%)	Particle size (μm)	
Formulation A				
0		7.0 ± 0.02	100.00 ± 1.20	$35.20 \pm 5.26^{\#}$
14		7.1 ± 0.02	100.68 ± 4.74	$31.73 \pm 3.96^{\#}$
30		7.1 ± 0.10	102.32 ± 3.21	$29.30 \pm 0.61^{*\#}$
Formulation B				
0		7.0 ± 0.02	100.00 ± 0.71	$50.63 \pm 2.65^{\#}$
14		6.9 ± 0.01	99.64 ± 3.00	$42.10 \pm 1.65^{*\#}$
30		6.8 ± 0.02	101.86 ± 1.99	$38.40 \pm 0.80^{*\#}$

(*) denote significant difference ($p < 0.05$) in comparison to the day 0, for each formulation; (#) denote significant difference ($p < 0.05$) between formulation A and B, in the same day of analysis.

Particle size analysis showed that particles ranged from $35.2 \pm 5.26 \mu\text{m}$ at the initial time to $29.3 \pm 0.61 \mu\text{m}$ at the final analysis time for suspension A and from 50.63 ± 2.65 at $38.4 \pm 0.80 \mu\text{m}$ for suspension B. There was statistical difference ($p < 0.05$) in the particle size distribution of suspension A on day 30, as well as in suspension B on days 14 and 30, when compared to the initial time of analysis. Furthermore, the particle size of formulation B was significantly larger than formulation A ($p < 0.05$). Additionally, it was possible to evidence the presence of crystals in the microscopic analysis of suspension A (Supplementary Material; Figure S1a and b), which came from the SDZ API (Supplementary Material; Figure S1e), however, there was no influence of these on the physicochemical stability of the formulation, as well as there was no noticeable change in these characteristics over the period evaluated.

Both formulations showed a reduction in viscosity with increasing shear rate, indicating a non-Newtonian fluid behavior. The viscosity of the formulations did not change throughout the storage time, as shown in Figure 2 ($p > 0.05$).

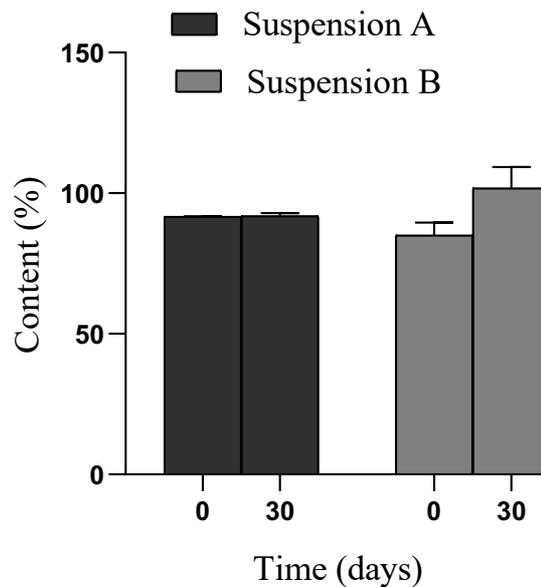
Figure 2. Determination of viscosity of SDZ suspensions A and B by Brookfield viscometer during the 30 days of study



Formulations A and B showed SDZ content close to 100% (Table 4) throughout the study, which are in accordance with the requirements of the Brazilian Pharmacopoeia for tablets containing a minimum of 95 and a maximum of 105% of SDZ content (FB, 2019a)

Considering the fast dissolution rate obtained, mainly in the first minutes of the test, it was decided not to present an SDZ dissolution profile. The results of the dissolution analysis showed that, in both formulations, more than 80% occurred in less than 15 minutes (figure 3), a result much faster than that suggested in the Brazilian pharmacopoeia for SDZ tablets (dissolution of 70% of the amount declared in at least 90 minutes). In addition, there was no statistically significant difference when comparing the amount of drug dissolved in each formulation in the respective time in relation to the initial time, as well as when comparing both formulations A and B.

Figure 3. Dissolved content of SDZ in suspensions A and B, after 15 minutes of stirring, at 0 and 30 days of storage.



Regarding the microbiological stability, the total aerobic microbial count, as well as the total combined yeasts/moulds count were <10 CFU/mL; in addition, no contamination by *E. coli* was observed over the course of 30 days.

4. Discussion

The research about development of formulations suitable for pediatric patients is recognized worldwide as an urgency, due to the most available drugs are in solid dosage forms, such as tablets and capsules, and pediatric patients present difficulties to swallow these

products (COELHO et al., 2013; SILVA et al., 2020). An alternative to circumvent this difficult is to prepare extemporaneous formulations by crushing tablets or opening capsules with subsequent solubilization or suspension in water or suspending agents (SILVA et al., 2020; STORPIRTIS et al., 2008). However, it is difficult to guarantee a safe dose for pediatrics, as this is based on data extrapolated from the adult public (GOES et al., 2019); besides, this practice can lead to undesirable consequences, such as changes in drug stability (YEUNG; WONG, 2005).

The scarcity of suitable formulations for use in this age group has led to the widespread use of off-label preparations (VALENTE, 2014). However, this practice may be associated with an increased risk of adverse reactions in children (ALONSO et al., 2019). The USA, Europe and Australia developed actions to encourage the production of medicines for pediatric use (COSTA; LIMA; COELHO, 2009), however, in Brazil, the lack of adequate formulations for this public, as well as the incentive to research these medicines, is still a reality. Compared to solid pharmaceutical forms, aqueous formulations have lower chemical, physical and microbiological stability, so after preparation it is necessary to carry out stability tests to predict the shelf life (POY et al., 2016). In this context, it is relevant to evaluate the stability of pediatric formulations obtained from solid pharmaceutical forms to ensure the precision of the dose, as well as the development of liquid pharmaceutical forms obtained from the API, thus avoiding the exposure of children to unnecessary excipients. In view of this, this study reports the development of SDZ suspensions of easy preparation, with selected excipients at their minimum concentrations.

It was prepared SDZ suspension from crushed tablets, aiming at ease of access, and API, an alternative free from other excipients. Additionally, the preparations were produced at a concentration of 100 mg/mL, taking into account previous publications (FERREIRA et al., 2016; COSTA et al., 2020) and aiming to obtain the smallest volume necessary to achieve therapeutic dosage, since the dosage for the treatment of congenital toxoplasmosis is 100 mg/kg/day divided into two doses. Furthermore, formulations with smaller volumes are usually better tolerated by children (VALENTE, 2014).

Although official monographs for SDZ tablets recommend the assay by HPLC technique, we developed and validated a UPLC method to assess the stability of the formulations due to the advantages that it offers, such as lower solvent consumption and less waste generation. In addition, due to the smaller particle size of column, greater efficiency, shorter analysis time and greater peak separation capacity are also related to the UPLC technique (COSTA et al., 2020; GUMUSTAS et al., 2013). Conversely, due to the presence

of the preservative in the formulations developed in this study, adjustments in the isocratic method developed previously reported (COSTA et al., 2020) were necessary, because they resulted in very long runs: under those conditions, the RT of methylparaben was 14.00 min, which can be explained in part by the lipophilicity of this substance ($\log P = 1.96$). The optimized conditions using gradient elution resulted in shorter analysis without losing separation efficiency.

The method developed was specific, linear, accurate, precise, and robust, therefore, it met the requirements of the legislation, for measuring SDZ in suspensions during stability studies. Regarding the forced degradation study, our results corroborate those found by Ferreira et al. (2016) with degradation rates of approximately 3% for all conditions evaluated (NaOH, HCl, UV and heat), as well as are similar to those obtained by Costa et al. (2020) for oxidative degradation (<10%).

Most extemporaneous suspensions are produced by mixing crushed tablets and a vehicle, which is usually a simple syrup or ready-to-use vehicle available on the market (ALARIE; ROULLIN; LECLA IR, 2019). In view of this, one of the main challenges of formulating suspensions is to ensure their physical stability, as particulate matter tends to deposit over time (KULKARNI, SHAW, 2016). Regarding physical stability, the analysis of organoleptic characteristics showed that the two suspensions (A and B) had a milky white color, characteristic odor of the essence used and no cake formation. It is noteworthy that these characteristics are of great importance for the adherence of pediatric patients to oral pharmacological treatment (PROVENZA et al., 2014). Furthermore the pH of the formulations remained unchanged throughout the study, which was expected once the formulations were buffered. (MAGUIRE; BAQIR; NUNN, 2007). It was observed reduction in the particle size of both suspensions and the particle size of formulation B was larger than formulation A, possibly due to the presence of excipients contained in the SDZ tablets. Even so, the particles present in our formulations had a diameter of around 50 μm , which are similar to the results found in a previous study where an extemporaneous oral suspension was developed from the grinding of benznidazole tablets (GARCÍA; MANZO; JIMENEZ-KAIRUZ, 2015). Furthermore, our results are in agreement with most pharmaceutical formulations (1-50 μm) characterized as coarse dispersions (ALLEN JR.; POPOVICH; ANSEL, 2013). When analyzing the morphology of the particles, we identified the presence of crystals from the API, however, there was no change in these characteristics over the period evaluated.

Parameters such as the texture of the formulation in the oral cavity, appearance and rheology of the vehicle also represent an important factor in the acceptance of the preparation by the child (LOPEZ et al., 2018; EMEA, 2006). In this study, we obtained formulations that showed no change in viscosity throughout the study, as well as presented non-Newtonian fluid behavior, which can be attributed to the presence of xanthan gum in the formulations, which usually presents plastic or pseudoplastic flow (PROVENZA et al., 2014).

It is worth mentioning that xanthan gum, the suspending agent used in our study, is a polysaccharide widely used in the food and pharmaceutical industry, due to its good thickening characteristics, in addition to its good solubility in water and stability in a wide pH range (3- 12) and temperature (KULKARNI, SHAW, 2016; FERREIRA et al., 2019). Ferreira et al (2016) developed their formulations using Syrspend SF pH 4 as a suspending agent, however, these commercially available vehicles should not be considered the best alternative for pediatric formulations, as they have several excipients in their composition (COSTA et al., 2020); in addition, they may not be available in some countries, which can increase the costs of the final product (MUSKO; SZNITOWSKA, 2014). In this context, our work presented an alternative formulation because it contains a simple suspending agent, easily obtainable and at an affordable cost.

The SDZ quantification method demonstrated adequate chemical stability, as the SDZ content remained stable for 30 days, in addition, the formulations presented levels around 100% throughout the study, which demonstrates that they had dose homogeneity after adequate agitation (USP, 2010). The suspensions developed in our study have greater chemical stability than formulations reported in literature. Pathmanathan et al (2003) obtained SDZ suspensions with only 3 days of chemical stability, while Costa et al. (2020) demonstrated chemical stability of 14 days for SDZ suspension. Despite this, the formulations were prepared based on simple syrup (85% sucrose) or sorbitol (70%), excipients that may be unsuitable for use in children due to the adverse effects associated with them. The production of syrups requires the addition of large amounts of sugars, an excipient that should be avoided in children, especially when the treatment is long-lasting, as sucrose can alter the dental pH and increase the dissolution of tooth enamel, in addition to lead to the appearance of caries. Sorbitol, indicated for patients with diabetes, should not be used in pediatrics because it can cause diarrhea in these patients, which can impair the absorption of the pharmaceutical active (VALENTE, 2014).

Regarding dissolution, the official requirement for SDZ tablets is not less than 70% in 90 minutes (FB 6, 2019b) and in this study it was identified a rapid dissolution of more than 80% of SDZ in 15 minutes for both formulations, in accordance with the immediate release characteristic of them. The fast release could be related to the particle size decrease as a result of the tablet crushing. The particle size effect in the dissolution and absorption is more evident in the case of poor soluble drugs (BONAMICI, 2009), as SDZ (LIU et al., 2020). Besides, the drug release from a suspension is favored because the disintegration step is absent (AULTON; TAYLOR, 2016). The assessment of the dissolution of a pharmaceutical form is important, as it allows predicting the in vitro bioavailability of the drug. In this context, it is expected that the absorption and therapeutic efficacy of a drug in a suspension prepared from crushed tablets are similar from those of the original dosage form used in its compounding (ZAID et al., 2017).

The use of preservatives in formulations is required in view of maintenance of the microbiological stability, especially aqueous ones (COSTA et al., 2020; HAYWOOD; GLASS, 2013). The most used preservatives are benzoic acid and parabens, however, they must be used carefully in pediatric formulations, once they are associated with manifestation of allergic reactions, such as urticaria and anaphylaxis (VALENTE et al., 2014; ROUAZ et al., 2021). Conversely, parabens have a broad spectrum of action in minimal concentrations and have been used in pediatric formulations (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; SOUZA JR, 2014). Therefore, the preservative used in our study was methylparaben, which can be used alone or in combination with propylparaben or other parabens, due to their synergistic effect. (TONAZIO et al., 2011).

Through the recovery of more than 70% of the microorganisms, we demonstrate the absence of toxicity and the effectiveness of the inactivators used, proving the suitability of the microbiological tests used. Our results indicated that the microbial limits were obeyed throughout the study period, since less than 10 CFU/mL of aerobic microbial count and total combined yeasts/mould were observed, as well as absence of *E. coli*. These results proved the effectiveness of the preservative used. Yoon et al. (2015) developed sildenafil suspensions for adult and pediatric use using a concentrated solution (4%) of parabens (methylparaben and propylparaben) as preservative and obtained results similar to ours, ensuring formulations with microbiological stability of 90 days.

5. Conclusions

The results from this study indicated that two SDZ suspensions were chemically, physically and microbiologically stable for a period of 30 days, when stored in a refrigerator. The excipients used in the formulations were carefully chosen for use in children, using the lowest concentration and quantity of adjuvants. In addition, the formulations have different compositions of SDZ, which can meet the needs of the formulator, as well as, formulation A can be used as an alternative for countries where there is no production of SDZ tablets. Then, the preparations can be used to secure the dose and improve the administration of the drug in the treatment of infants and children affected by congenital toxoplasmosis.

REFERENCES

- ALARIE, H; ROULLIN, V. G; LECLAIR, G. Development of a safe and versatile suspension vehicle for pediatric use: Formulation development. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 569, n., p. ,2019.
- ALLEN JR., L. V.; POPOVICH, L. G.; ANSEL, H.C. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos** [recurso eletrônico]. 9 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 716 p.
- ALONSO, A. S. et al. Use of off-label drugs in neonatal intensive care. **Anales de Pediatría**, v. 91, n. 4, p. 237-243, 2019.
- AULTON, M. E.; TAYLOR, K. M. G. **Aulton delineamento de formas farmacêuticas**. 4 Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.
- BONAMICI, D. **Sistema de Classificação Biofarmacêutica e Bioisencões**. Orientadora: Dra. Cristina H. dos Reis Serra. 2009. 171 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, São Paulo, SP, 2009.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas e Estratégicas. **Atenção à saúde do recém-nascido: guia para os profissionais de saúde**. Brasília, DF, v. 2, cap. 16. 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Use off label: erro ou necessidade?** **Revista de Saúde Pública**, v. 46 (2), p. 398-399, 2012a.
- BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada – 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, 24 jul. 2017. Disponível em: <https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/19194581/do1-2017-07-25-resolucao-rdc-n-166-de-24-de-julho-de-2017-19194412>. Acesso em: 18 de dezembro de 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Influenza: Monitoramento até a Semana Epidemiológica 49 de 2019a. **Boletim epidemiológico**. Brasília, DF, v. 50, n. 38, Dez. 2019.

BRASIL. Toxoplasmose: sintomas, tratamento e como prevenir. **Ministério da Saúde**, Brasília, DF. 2019b. Disponível em: <<https://saude.gov.br/saude-de-a-z/toxoplasmose>>. Acesso em: 01 jun. 2021.

CDC. Centers for disease control and prevention. **Parasites - Toxoplasmosis (Toxoplasma infection)**. Out, 2020. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/parasites/toxoplasmosis>>. Acesso em 01 jun. 2021.

COSTA, B. S. R., et al. Stability of extemporaneous sulfadiazine oral suspensions from commercially available tablets for treatment of congenital toxoplasmosis. **Tropical Medicine and International Health**, v. 25, n. 3, p. 364–372, 2020.

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, 2009.

EMEA. European Medicines Agency. Pre-authorisation Evaluation of Medicines for Human Use. Committee for Medicinal Products for Human use (CHMP). **Reflection paper: Formulations of choice for the paediatric population**. London, 2006. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-formulations-choice-paediatric-population_en.pdf>. Acesso em 28 de abr de 2021.

FB 6. Farmacopeia Brasileira 6. ed, volume I. Brasília: **ANVISA**, 2019a. 873 p.

FB 6. Farmacopeia Brasileira 6. ed, volume II. Insumos Farmacêuticos e Especialidades Brasília: **ANVISA**, 2019b. 1504 p.

FERNANDEZ, E. et al. Factors and mechanisms for pharmacokinetic differences between pediatric population and adults. **Pharmaceutics**, v. 3, n. 1, p. 53–72, 2011.

FERREIRA, A. O. et al. Feasibility of amlodipine besylate, chloroquine phosphate, dapsone, phenytoin, pyridoxine hydrochloride, sulfadiazine, sulfasalazine, tetracycline hydrochloride, trimethoprim and zonisamide in SyrSpend® SF PH4 oral suspensions. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 118, p. 105–112, 2016.

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.

FERREIRA, L. M. et al. Xanthan gum-based hydrogel containing nanocapsules for cutaneous diphenyl diselenide delivery in melanoma therapy. **Investigational New Drugs**, v. 38, p. 662-674, 2019.

GARCÍA, M; MANZO, R; JIMENEZ-KAIRUZ, A. Extemporaneous benznidazole oral suspension prepared from commercially available tablets for treatment of Chagas disease in

paediatric patients. **Tropical Medicine and International Health**, v. 20, n. 7, p. 864-870, 2015.

GOES, J. et al. Preformulation of a liquid dosage formulation of captopril for pediatric use: drug-excipient compatibility and stability studies. **Braz. J. Pharm. Sci**; v. 55, p. 1-10, 2019.

GUMUSTAS, M. et al. UPLC versus HPLC on Drug Analysis: Advantageous, Applications and Their Validation Parameters. **Chromatographia**, v. 76, p. 1365-1427, 2013.

HAYWOOD, A.; GLASS, B. Liquid dosage forms extemporaneously prepared from commercially available products – considering new evidence on stability. **Journal of Pharmacy Pharmaceutical Sciences**, v. 16 (3), p. 441-455, 2013.

ICH. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use: **Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 (R1)**, 2005.

KOSZMA, E. I. A. et al. Uso de medicamentos *off-label* em unidade de terapia intensiva neonatal. **Rev. Paul. Pediatr.**, v. 39, 2021.

KULKARNI, V. S.; SHAW, C. **Use of Polymers and Thickeners in Semisolid and Liquid Formulations**. Essential Chemistry for Formulators of Semisolid and Liquid Dosages, p. 43-69. London: Elsevier, 2016.

LAM, J. K. W. et al. Oral transmucosal drug delivery for pediatric use. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 73, p. 50-62, 2013.

LIU, Y. et al. Considerations for application of biopharmaceutics classification system in chicken: Exemplified by seven drugs classification. **J. vet. Pharmacol. Therap**, v. 43, p. 179-188, 2020.

LOPEZ, F. L. et al. The effect of administration media on palatability and ease of swallowing of multiparticulate formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 551, p. 67-75, 2018.

MAGUIRE, A; BAQIR, W; NUNN, J. H. Blackwell Publishing Ltd Are sugars-free medicines more erosive than sugars-containing medicines? An in vitro study of paediatric medicines with prolonged oral clearance used regularly and long-term by children. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 17, p. 231-238, 2007.

MARTIN, J. **BNF for children 2011-2012**. London: BMJ Group, the Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, and RCPCH Publications Ltd; 2011.

MARTINS, A. C. M. et al. Núcleo de Telessaúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. **Telecondutas: Toxoplasmose na gestação**. Rio Grande do Sul: Porto Alegre, 16 p., 2019. Disponível em: < <https://www.ufrgs.br/telessauders/noticias/telecondutas-toxoplasmose-na-gestacao/> >. Acesso em: 01 jun. 2021.

MUSKO, M.; SZNITOWSKA, M. Use of compounded dispersing media for extemporaneous pediatric syrups with candesartan cilexetil and valsartan. **Acta Pharmaceutica**, v. 64, p. 463–474, 2014.

PATHMANATHAN, U. et al. Stability of sulfadiazine oral liquids prepared from tablets and powder. **J Pharm Pharmaceut Sci**, v. 7, n. 1, p. 84-87, 2004.

PEREIRA, A. C. S. et al. Medicamentos magistrais em recém-nascidos e crianças hospitalizados. **Revista Paulista de Pediatria**, 34 (4), p. 403-407, 2016.

POY, M. J. et al. Microbiological quality of pediatric oral liquid formulations Calidad microbiológica de las formulaciones orales líquidas pediátricas. **Farm Hosp**. v. 40, n. 5, p. 427-435, 2016.

PROVENZA, N. et al. Design and physicochemical stability studies of paediatric oral formulations of sildenafil. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 460, p. 234–239, 2014.

ROUAZ, K. et al. Excipients in the Paediatric Population: A Review. **Pharmaceutics**, v. 13, p. 1-44, 2021.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, E. M. **Handbook of pharmaceutical excipients**. 6 ed. London: Pharmaceutical Press, 2009. 888 p.

SHABIR, G. V. Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis Understanding the differences and similarities between validation requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopeia and the International Conference on Harmonization. **Journal of Chromatography A**, v. 987, p. 57-66, 2003.

SILVA, M. R. M. et al. Preparation of extemporaneous oral liquid in the hospital pharmacy. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 56, 2020.

SOUZA JR., A. et al. Toxic excipients in medications for neonates in Brazil. **European Journal of Pediatrics**, v. 173, n. 7, p. 935-945, 2014.

STORPIRTIS, S. et al. **Farmácia clínica e atenção farmacêutica**. Rio de Janeiro, cap. 18, p. 178-180, 2008.

TONAZIO, L. et al. Reações adversas dos adjuvantes farmacêuticos presentes em medicamentos para uso pediátrico. **HU Revista**, v. 37, n. 1, p. 63-68, 2011.

USP. Sulfadiazine Tablets. The **United States Pharmacopeia**. Rockville: United States Pharmacopeia Convention. 2016. p. 1202-1221, 5941.

VALENTE, S. C. C. G. J. **Formas farmacêuticas em pediatria**. 2014. 80 p. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas)-Universidade do Algarve, Faro, 2014.

YEUNG, V. W; WONG, I. C. When do children convert from liquid antiretroviral to solid formulations? **Pharm World Sci**, v. 27, p. 399- 402, 2005.

YOON, A. S. et al. Physicochemical and Microbiological Stability of the Extemporaneous Sildenafil Citrate Oral Suspension. **Scientia Pharmaceutica**, v. 83, p. 659-670, 2015.

ZAID, A. et al. Stability of extemporaneously prepared rosuvastatin oral suspension. **Am J Health-Syst Pharm**, v. 74, n. 19, p. 1579-1583, 2017.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Development and stability study of sulfadiazine suspensions for pediatric use

Micheline Silva Dias, Amanda Maccangan Zamberlan, Rebeca Lino Lourenço, Emanuele Saul Saraiva, Julya Sarmento Neis, Luana Mota Ferreira, Andréa Inês Horn Adams.

Tables

Table 1. Accuracy and precision results for SDZ (% recovery) at dissolution test.

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Day 1	Day 2	Average \pm R.S.D.
4	99.65	98.81	99.23 \pm 0.60
11.1	96.26	98.36	97.31 \pm 1.53
13	96.06	95.85	95.96 \pm 0.15

Table 2. Inter-day precision for the SDZ standard stock solutions at dissolution test.

	Concentration (%)		
	4 $\mu\text{g/mL}$	11.1 $\mu\text{g/mL}$	13 $\mu\text{g/mL}$
Day 1	101.59	98.36	97.37
Day 2	99.65	96.26	96.06
Day 3	98.81	94.17	95.85
Average (%)	100.02	96.26	96.43
R.S.D (%)	1.43	2.18	0.85

Table 3. Recovery results (%) of test microorganisms in Soybean-Casein Digest Agar and Sabouraud-dextrose Agar in the presence of SDZ suspension

Test microorganism	Dilution	CG (CFU/plate)	IG (CFU/plate)	Recovery (%)	ISG (CFU/plate)	Recovery (%)
<i>S. aureus</i>	10 ⁻⁵	40	39	97.50	44	110.00
<i>P. aeruginosa</i>	10 ⁻⁴	112	116	103.57	129	115.18
<i>E. coli</i>	10 ⁻⁵	60	65	108.33	72	120.00
<i>C. albicans</i>	10 ⁻³	49	79	161.22	61	124.49

CG: Control group (inoculum); IG: Inactivating Group (inoculum + inactivating agents); ISG: Inactivated Sample Group (inoculum + sample + inactivating agents).

Table 4. Results of robustness evaluation.

Variations	Retention time	Theoretical plates	Tailing factor	Capacity factor	Assay Mean ± S.D.
Optimized conditions[#]	2.56	5292	1.32	2.44	100.45 ± 1.32
Mobile phase flow					
0.19 mL/min	2.68	5097	1.37	2.77	98.85 ± 0.94
0.21 mL/min	2.46	4999	1.43	2.81	98.75 ± 0.04
Aqueous phase Ph					
3.5	2.64	4505	1.36	2.50	98.79 ± 1.14
4.5	2.67	4540	1.35	2.65	97.74 ± 0.42
Oven temperature					
24 °C	2.67	4264	1.67	2.80	99.02 ± 0.52
26 °C	2.62	4732	1.46	1.68	97.98 ± 0.35

[#]Mobile phase flow: 0.20 mL/min; Aqueous phase pH: 3.5; Oven temperature: 25 °C

Figures

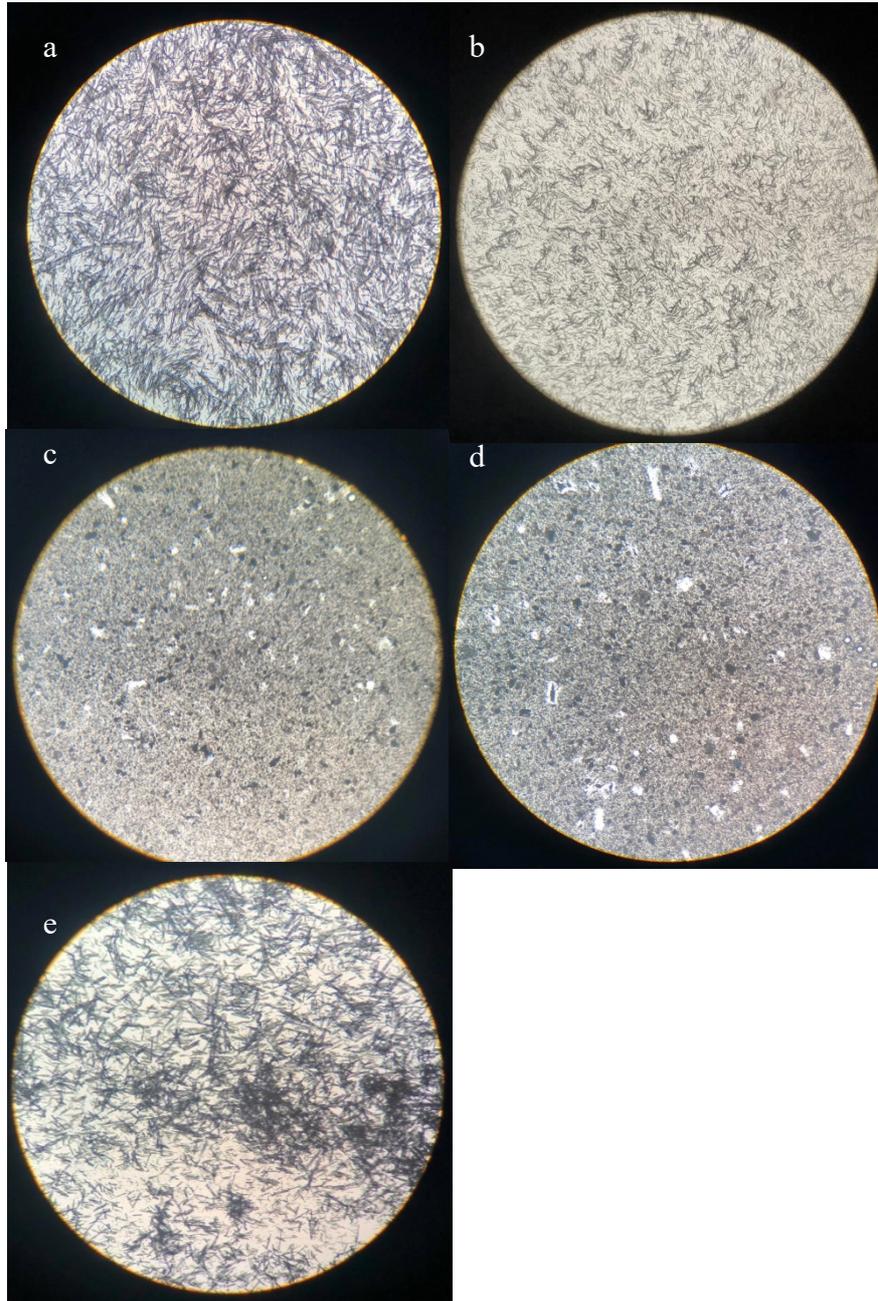


Figure 1 – Microscopic image in the 10x objective lens of suspension A and of suspension B. (a): Suspension A at the initial analysis time (day 0); (b): Suspension A at the final time (day 30) of analysis; (c): Suspension B at the initial time of analysis (day 0); (d): Suspension B at the final time (day 30) of analysis; (e): Powder SDZ API.

5. DISCUSSÃO GERAL

As preparações de uso oral costumam ser as preferidas entre todas as formulações (AABED et al., 2021). Apesar de existir um grande número de formulações de uso adulto indicadas para uso pediátrico, muitas dessas formulações não possuem estudo clínico que embasa essa recomendação (MILNE; BRUSS, 2008). Além disso, boa parte dos medicamentos desenvolvidos é encontrada na forma sólida, o que impossibilita a administração em pacientes com dificuldade de deglutição, como as crianças (SILVA et al., 2020). Dessa maneira, a medicina pediátrica costuma fazer uso de protocolos *off label* para contornar a escassez de prescrições adequadas para esse fim (BELAINEH; TADESE; MOLLA, 2020). As formas farmacêuticas líquidas orais, geralmente, são desenvolvidas na forma de soluções, suspensões ou emulsões (VALENTE, 2014). O preparo de formulações em suspensão oferece maior estabilidade para fármacos quimicamente instáveis em solução, como a SDZ, além disso, permite a escolha do edulcorante pelo sabor e não pela sua capacidade de mascarar o sabor desagradável da substância química, pois nessa forma farmacêutica a mesma encontra-se insolúvel (ALLEN JR.; POPOVICH; ANSEL, 2013).

O preparo de formulações líquidas orais extemporâneas é uma alternativa viável à falta de forma ou dosagem farmacêutica adequada para pacientes pediátricos, entretanto, é bastante limitada a disponibilidade de dados na literatura sobre a avaliação da estabilidade dessas preparações. Dessa forma, informações como prazo de validade e modo de armazenamento, por exemplo, costumam ser definidas de modo aleatório (FOLEY et al., 2021). Neste contexto, justifica-se o desenvolvimento de formulações de SDZ adequadas para o uso pediátrico e de fácil preparo, além disso, conforme mencionado anteriormente, este antimicrobiano é utilizado no tratamento da toxoplasmose, uma infecção com grande incidência no Brasil e em outros países de clima tropical (KAHAN et al., 2020).

No manuscrito foi descrito o desenvolvimento de duas suspensões obtidas a partir da matéria-prima (A) ou do pó de comprimidos (B) de SDZ e o estudo de estabilidade dessas formulações. Inicialmente, os estudos de estabilidade seriam conduzidos em duas diferentes temperaturas de armazenamento (temperatura ambiente e sob refrigeração), todavia, ainda na fase inicial dos testes, houve a descontinuação da produção de comprimidos de SDZ no país inviabilizando a compra de material para parte da produção da formulação B. Dessa forma,

decidiu-se por utilizar apenas uma temperatura de armazenamento para avaliação das duas formulações.

O desenvolvimento de uma formulação para uso em crianças deve envolver a escolha de excipientes seguros e aceitáveis para a faixa etária alvo. Além disso, os adjuvantes devem ser escolhidos de modo a melhorar a palatabilidade e conservação da formulação (BATCHELOR; MARRIOTT, 2013). Outro fator a ser considerado no preparo de uma formulação líquida oral é o volume de dose. Nesse sentido, para o desenvolvimento das formulações, foi realizada uma criteriosa seleção dos excipientes e de suas concentrações, buscando a segurança do público pediátrico, além da disponibilidade comercial destes. Inicialmente, três diferentes concentrações de agente de suspensão (0.2, 0.3 e 0.4%) foram testadas e, após análise visual das preparações (dados não apresentados), foi escolhida a maior concentração de goma xantana para a preparação das formulações A e B. Adicionalmente, as suspensões foram formuladas na concentração de 100 mg/mL, considerando as publicações já disponíveis e a possibilidade de administração de baixos volumes, visto que dosagens com volumes menores parecem ser mais bem toleradas pelas crianças (VALENTE, 2014).

Com relação ao desenvolvimento e validação do método para avaliação da estabilidade química de SDZ, além dos parâmetros a serem analisados (especificidade, linearidade, precisão, exatidão e robustez), características como o consumo de solventes e reagentes, o tempo empregado para o preparo das amostras e a análise e o descarte de resíduos, também, foram consideradas na escolha do método. Nesse sentido, optou-se por utilizar a CLUE, que devido ao menor tamanho das partículas de empacotamento da coluna, proporciona maior eficiência de separação e menor tempo de análise (GUMUSTAS et al., 2013; FACCI et al., 2020) e, conseqüentemente, menor consumo e descarte de solventes e reagentes. Para análise das formulações propostas, foram realizadas adaptações nas condições analíticas de um método já relatado na literatura (COSTA et al., 2020), obtendo método analítico específico, linear, preciso, exato e robusto.

As formulações foram avaliadas quanto à estabilidade física, parâmetro muito importante no desenvolvimento de uma formulação, pois pode afetar a biodisponibilidade da substância ativa (BREVEDAN; VARILLAS; VIDAL, 2012). Durante todo o período de estudo, as formulações apresentaram características organolépticas similares, como cor branco-leitosa e odor da essência empregada na formulação, sendo que não houve alteração desses parâmetros ao longo do estudo. As características organolépticas representam um fator importante para a aceitação e adesão terapêutica da população pediátrica.

Com relação ao pH, este se manteve na faixa da neutralidade para as duas formulações (A e B), sem apresentar quaisquer alterações significativas. A avaliação e o ajuste de pH é um fator importante no desenvolvimento de uma formulação líquida oral, visto que este influencia na dissolução da substância química na concentração almejada e mantém a estabilidade química do fármaco, assegurando a eficácia terapêutica pretendida (FERREIRA et al., 2010). Considerando os valores de pKa da SDZ, no pH das formulações (pH 7,0), o grupo amina aromático encontra-se não ionizado (pKa 1,8) enquanto o grupo sulfonamida, cujo pKa é 6.5, encontra-se parcialmente ionizado, contribuindo para o aumento da solubilidade do fármaco.

O tamanho e a morfologia das partículas em suspensão também foram avaliados e verificou-se que houve diferença estatística no tamanho de partícula das formulações ao longo do estudo de estabilidade (dados apresentados na tabela 4). Nas figuras 2 e 3 pôde-se observar a distribuição granulométrica das partículas (μm) das formulações A e B, respectivamente, no tempo inicial do estudo (0 dias), onde verificou-se que a suspensão B apresentava duas populações granulométricas predominantes, enquanto que a suspensão A apresentava apenas uma. Além disso, com o gráfico comparativo, foi possível identificar que os três lotes de ambas as formulações eram semelhantes entre si. Com relação ao tamanho das partículas, observou-se que a formulação B ($50.63 \pm 2.65 \mu\text{m}$), produzida a partir do pó dos comprimidos triturados e que, portanto, continha outros excipientes em sua composição, apresentou tamanho de partícula significativamente maior em relação à formulação A ($35.2 \pm 5.26 \mu\text{m}$), preparada com o pó do IFA. Adicionalmente, a análise microscópica mostrou que havia a presença de cristais, os quais eram provenientes da SDZ (resultado comprovado pela análise microscópica do pó do IFA de SDZ, conforme figura S1e – material suplementar) na suspensão A. Entretanto, não foi observada alteração dessas características ao longo do estudo. A diferença de tamanho das partículas entre as formulações, possivelmente, se dá pela presença de excipientes oriundos dos comprimidos de SDZ na formulação B, embora estes se encontrem em concentração relativamente baixa em relação à SDZ (16,18%), ou mesmo pela maceração empregada no preparo das suspensões, visto que não houve uma padronização para esta técnica. Ainda assim, as formulações aqui desenvolvidas apresentam granulometria uniforme e semelhante a resultados já reportados em literatura, com tamanhos de até $100 \mu\text{m}$, considerados satisfatórios (GARCÍA; MANZO; JIMENEZ-KAIRUZ, 2015; SANTOVEÑA et al., 2014).

Figura 2 – Imagem gráfica comparativa da análise do tamanho de partícula (μm), no tempo inicial (0 dias), de 3 lotes da suspensão A realizada em equipamento Master Sizer.

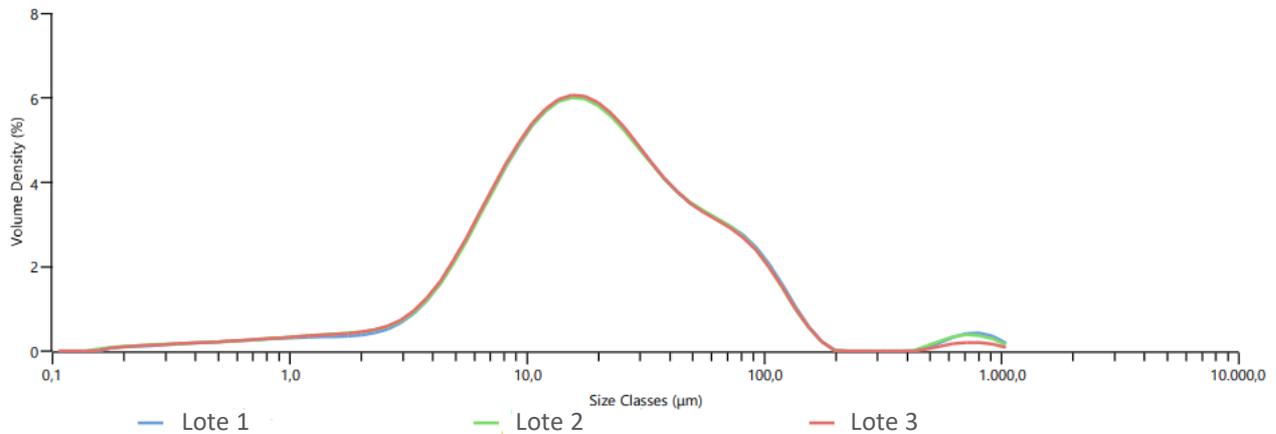
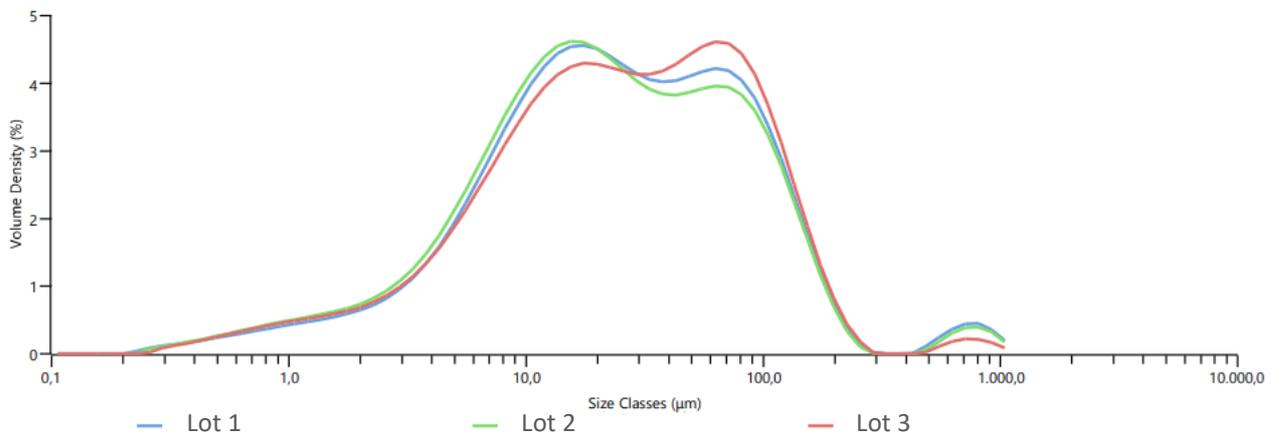


Figura 3 – Imagem gráfica comparativa da análise do tamanho de partícula (μm), no tempo inicial (0 dias), de 3 lotes da suspensão B realizada em equipamento Master Sizer.



Quanto à avaliação da viscosidade, foi possível verificar que as formulações A e B se apresentavam como fluidos não-Newtonianos, pois a relação entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação não foi constante. Ademais, não houve alteração na viscosidade das formulações ao longo dos 30 dias de análise. Com relação a esses dados, os compêndios oficiais não informam um valor limite para a viscosidade de formulações orais, entretanto, não é desejável que as formulações sejam muito viscosas, pois isso dificulta o escoamento do fluido e prejudica a redispersão das partículas (ALLEN JR.; POPOVICH; ANSEL, 2013), comprometendo a retirada de doses uniformes da embalagem. Dessa maneira, dados de literatura trazem diversos valores de viscosidade para suspensões orais, desde formulações

menos viscosas (COSTA et al., 2020; GARCÍA; MANZO; JIMENEZ-KAIRUZ, 2015), até mais viscosas (SANTOVEÑA et al., 2014; 2016).

Além da instabilidade física, formulações extemporâneas estão sujeitas à degradação química durante o período de armazenamento, que podem impactar na biodisponibilidade da substância ativa, diminuir os benefícios da terapia medicamentosa e ainda oferecer riscos a saúde do paciente (BELAYNEH; TESSEMA, 2021). Além disso, a instabilidade química do princípio ativo pode limitar o prazo de validade de uma formulação. Teores acima de 90% da concentração declarada no rótulo costumam ser aceitáveis (FOLEY et al., 2021). As formulações aqui apresentadas mantiveram teores próximos de 100%, sem apresentar alterações significativas ($p > 0.05$) durante o período de teste, indicando estabilidade química de 30 dias. Ferreira e colaboradores (2016) desenvolveram formulações de SDZ dispersas em veículos comerciais, as quais foram estáveis durante 90 dias. Entretanto, esses produtos contêm uma grande quantidade de excipientes, o que poderia causar exposição desnecessária de pacientes pediátricos a adjuvantes presentes na formulação. Da mesma maneira, Costa e colaboradores (2020) desenvolveram suspensões de SDZ com base de xarope simples estáveis por 14 dias, contudo, a produção de xaropes envolve a adição de altas concentrações de sacarose, aditivo que deve ser evitado em crianças, principalmente, em tratamentos de uso prolongado (ROUAZ et al., 2021).

Embora os testes de estabilidade de dissolução forneçam subsídios importantes com relação ao impacto sobre a biodisponibilidade do fármaco, poucos estudos costumam avaliar este comportamento, ainda assim, é fundamental que a taxa de dissolução permaneça inalterada ao longo da validade do produto (BREVEDAN; VARILLAS; VIDAL, 2012). Nesse sentido, foi avaliada a dissolução das formulações A e B, as quais apresentaram mais de 80% de dissolução em 15 minutos de teste, resultado bastante superior àquele indicado na Farmacopeia Brasileira (2019a) para os comprimidos que prevê dissolução de, pelo menos, 70% da quantidade declarada de SDZ em 90 minutos. Adicionalmente, não houve diferença estatística significativa ($p > 0.05$) quando comparada a porcentagem de fármaco dissolvido ao final dos 30 dias de armazenamento, bem como, entre as formulações A e B. Aabed e colaboradores (2021) obtiveram resultados bastante semelhantes aos demonstrados neste trabalho (>85% de dissolução em 15 minutos) para suspensões de amlodipina/valsartana obtidas a partir da trituração de comprimidos. Sugere-se que a velocidade de dissolução das formulações A e B seja tão mais rápida do que aquela prevista na monografia farmacopeica para comprimidos de SDZ, pelo menos 70% de dissolução em 90 minutos (FB 6, 2019a), devido ao tamanho das partículas presentes nas suspensões, pois a trituração do ativo

promove a diminuição do tamanho de partícula e o aumento da área superficial, o que facilitaria a dissolução. Além disso, espera-se que uma formulação líquida apresente melhor dissolução em relação a uma forma farmacêutica sólida, visto que para dissolver um comprimido, por exemplo, é necessário que este seja primeiramente desintegrado. Nas preparações líquidas essa barreira já foi contornada, o que poderia explicar também a ausência de diferença estatística significativa na porcentagem de dissolução entre as duas suspensões.

As formulações farmacêuticas são sujeitas a contaminação e a deterioração por micro-organismos, por isso, há necessidade de protegê-las, principalmente, porque os pacientes que fazem uso desses produtos podem estar com a imunidade comprometida e, então, mais vulneráveis à infecção (AULTON; TAYLOR, 2016). Os excipientes são aliados importantes para a preservação de formulações farmacêuticas (BELAYNEH; TADESE; MOLLA, 2020), como os agentes conservantes, que previnem ou inibem o crescimento dos micro-organismos (KHAN et al.; 2015). Entre os antimicrobianos mais utilizados em formulações líquidas orais está o metilparabeno, que pode ser utilizado em associação a outros parabenos, para intensificar a ação conservante, ou isolado (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009). Além disso, a associação com propilenoglicol proporciona um aumento na efetividade da ação conservante exercida pelo metilparabeno (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; MENDES et al., 2013). Com relação aos resultados de estudo de estabilidade microbiológica, não foi observado crescimento microbiológico em ágar Caseína-de-soja ou Sabouraud-dextrose (<10 UFC/mL) nas suspensões A e B, bem como, não foi identificada a presença do patógeno *E. coli*. Portanto, nossos resultados mantiveram-se dentro dos limites preconizados pela Farmacopeia Brasileira (2019a) para formulações líquidas não estéreis durante todo o estudo (30 dias), tal como, resultados relatados em estudos anteriores (GARCÍA; MANZO; JIMENEZ-KAIRUZ, 2015; YOON et al., 2015).

6. CONCLUSÕES

Preparamos duas diferentes suspensões de SDZ a partir do pó do IFA (A) ou dos comprimidos triturados (B), ambas formulações de composição simples, com excipientes cautelosamente selecionados visando a segurança de pacientes pediátricos. A suspensão A poderá ser utilizada como alternativa em países que não possuem a disponibilidade de comprimidos de SDZ, como é o caso do Brasil, que desde meados de 2020 descontinuou a produção desta forma farmacêutica. Adicionalmente, a suspensão B se torna uma alternativa menos onerosa em países onde é possível a obtenção de comprimidos de SDZ.

Ambas as suspensões A e B demonstraram estabilidade física, química e microbiológica de 30 dias, desde que armazenadas sob refrigeração ($5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$), bem como, observamos que a formulação da SDZ em suspensão favoreceu para uma boa dissolução do fármaco (>80% em 15 minutos).

Por fim, as formulações aqui desenvolvidas poderão ser utilizadas para assegurar a administração de dose adequada e segura para lactentes e pacientes pediátricos, constituindo uma alternativa viável para o tratamento de crianças acometidas pela toxoplasmose congênita.

REFERÊNCIAS

- AABED, W. J. et al. Extemporaneous Compounding and Physiological Modeling of Amlodipine/Valsartan Suspension. **International Journal of Hypertension**, v. n. p. 1-10, 2021.
- ALARIE, H; ROULLIN, V. G; LECLAIR, G. Development of a safe and versatile suspension vehicle for pediatric use: Formulation development. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 569, 2019.
- ALLEN JR., L. V.; POPOVICH, L. G.; ANSEL, H.C. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos** [recurso eletrônico]. 9 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 716 p.
- ALMEIDA, M. J. et al. Aspectos sociopolíticos da epidemia de toxoplasmose em Santa Isabel do Ivaí (PR). **Ciencia & Saúde Coletiva**, v. 16 (Supl. 1), p. 1363-1373, 2011.
- ALONSO, A. S. et al. Use of off-label drugs in neonatal intensive care. **Anales de Pediatría**, v. 91, n. 4, p. 237-243, 2019.
- AMIDON, G. L.; LENNERNÄS, H.; SHAH, V. P.; CRISON, J. R. A theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharmaceutical Research**, v. 12, n. 3, p. 413-420, 1995.
- AULTON, M. E.; TAYLOR, K. M. G. **Aulton delineamento de formas farmacêuticas**. 4 Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.
- BARBOSA, M. C.; PINTO, S. Development of a sugar-free vehicle with universal characteristics for extemporaneous preparation of paediatric oral suspensions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 536, p. 490–522, 2018.
- BATCHELOR, H. K; MARRIOTT, J. F. Formulations for children: problems and solutions. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 79, n. 3, p. 405-418.
- BELAYNEH, A; TADESE, E; MOLLA, F. Safety and Biopharmaceutical Challenges of Excipients in Off-Label Pediatric Formulations. **International Journal of General Medicine**, v. 13, p. 1051-1066, 2020.
- BELAYNEH, A; TESSEMA, Z. A Systematic Review of the Stability of Extemporaneous Pediatric Oral Formulations. **The Scientific World Journal**, v. n. p. 1-9, 2021.
- BIALK-BIELINSKA, A. et al. Hydrolysis of sulphonamides in aqueous solutions. **Journal of Hazardous Materials**, v. 221–222, p. 264–274, 2012.
- BONAMICI, D. **Sistema de Classificação Biofarmacêutica e Bioisencões**. Orientadora: Dra. Cristina H. dos Reis Serra. 2009. 171 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, São Paulo, SP, 2009.
- BORGES, I. P. **Efeito antiparasitário sobre *Toxoplasma gondii* induzido pela BnSP-7 uma PLA₂-Lys49 homóloga da peçonha *Bothrops pauloensis***. 2015. 69 p. Dissertação (Mestrado em genética e bioquímica)-Universidade Federal de Uberlândia, 2015.

BOYER, K. M. Congenital toxoplasmosis: Current status of diagnosis, treatment, and prevention. **Seminars in Pediatric Infectious Diseases**, v. 11, n. 3, p. 165-171, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC 67, de 08 de outubro de 2007. Dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para Uso Humano em farmácias. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, 01 out. 2007. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2007/rdc0067_08_10_2007.html>. Acesso em> 16 de março de 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas e Estratégicas. **Gestação de alto risco**: manual técnico. 5. Ed. Brasília, DF, p. 115-118. 2010a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Formulário terapêutico nacional 2010: Rename 2010. 2ª Ed, Brasília: **Ministério da Saúde**. 2010b. 1135 p. (Série B. textos Básicos de Saúde). Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/formulario_terapeutico_nacional_2010.pdf>. Acesso em: 03 de abril de 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas e Estratégicas. **Atenção à saúde do recém-nascido**: guia para os profissionais de saúde. Brasília, DF, v. 2, cap. 16. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. *Use off label: erro ou necessidade?* **Revista de Saúde Pública**, v. 46 (2), p. 398-399, 2012a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Investigação de casos de toxoplasmose aguda em Paraty e Angra dos Reis – Rio de Janeiro, agosto de 2010. **Boletim epidemiológico**, Brasília, DF, v. 43, n. 2. 2012b.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada – 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, 24 jul. 2017. Disponível em: <https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/19194581/do1-2017-07-25-resolucao-rdc-n-166-de-24-de-julho-de-2017-19194412>. Acesso em: 18 de março de 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Protocolo de notificação e investigação: Toxoplasmose gestacional e congênita. **Ministério da Saúde**, Brasília, DF, 31 p, 2018. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolo_notificacao_toxoplasmose_gestacional.pdf>. Acesso em: 01 de janeiro de 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Influenza: Monitoramento até a Semana Epidemiológica 49 de 2019. **Boletim epidemiológico**. Brasília, DF, v. 50, n. 38, Dez. 2019a.

BRASIL. Toxoplasmose: sintomas, tratamento e como prevenir. **Ministério da Saúde**, Brasília, DF. 2019b. Disponível em: <<https://saude.gov.br/saude-de-a-z/toxoplasmose>>. Acesso em: 16 de março de 2020.

BREVEDAN, M. I. V.; VARILLAS, M. A.; VIDAL, N. L. G. Dissolution Stability of Cephalexin Extemporaneous Suspensions During an Accelerated Stability Study. **Dissolution Technologies**, p. 23-27. 2012.

CDC. Centers for disease control and prevention. **Toxoplasmosis**. Out, 2020. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/dpdx/toxoplasmosis/index.html>>. Acesso em 10 de setembro de 2021.

CHMP. Committee for human medicinal products. **Background review for the excipient propylene glycol**. London: European Medicines Agency, 2014.

COSTA, B. S. R., et al. Stability of extemporaneous sulfadiazine oral suspensions from commercially available tablets for treatment of congenital toxoplasmosis. **Tropical Medicine and International Health**, v. 25, n. 3, p. 364–372, 2020.

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.

DELRIVO, A; ZOPPI, A; LONGHI, M. R. Interaction of sulfadiazine with cyclodextrins in aqueous solution and solid state. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 1980-1988, 2012.

DMITRIENKO, S. G. et al. Recent advances in sample preparation techniques and methods of sulfonamides detection – A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 850, p. 6-25, 2014.

DURDUNKIJI, A. A.; ALKHATIB, H. S.; AL-GHAZAWI, M. Development of a Biphasic Dissolution Test for Deferasirox Dispersible Tablets and Its Application in Establishing an In Vitro—In Vivo Correlation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 102, p. 9-18, 2016.

EMA. European Medicines Agency. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). **Reflection paper on the use of methyl- and propylparaben as excipients in human medicinal products for oral use**. London, 2015. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-use-methyl-propylparaben-excipients-human-medicinal-products-oral-use_en.pdf>. Acesso em 02 de jun de 2021.

EMEA. European Medicines Agency. Pre-authorisation Evaluation of Medicines for Human Use. Committee for Medicinal Products for Human use (CHMP). **Reflection paper: Formulations of choice for the paediatric population**. London, 2006. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-formulations-choice-paediatric-population_en.pdf>. Acesso em 28 de abr de 2021.

FACCI, J. et al. Evolução da legislação e das técnicas analíticas aplicadas a estudos de estabilidade de insumos e produtos farmacêuticos. **Química nova**, v.43, n.7, p. 959-973. 2020.

FB 6. Farmacopeia Brasileira 6. ed, volume II. Insumos Farmacêuticos e Especialidades Brasília: ANVISA, 2019a. 1504 p.

FB 6. Farmacopeia Brasileira 6. ed, volume I. Brasília: ANVISA, 2019b. 873 p.

FERNANDEZ, E. et al. Factors and mechanisms for pharmacokinetic differences between pediatric population and adults. **Pharmaceutics**, v. 3, n. 1, p. 53–72, 2011.

FERREIRA, A. O. et al. Feasibility of amlodipine besylate, chloroquine phosphate, dapsone, phenytoin, pyridoxine hydrochloride, sulfadiazine, sulfasalazine, tetracycline hydrochloride, trimethoprim and zonisamide in SyrSpend® SF PH4 oral suspensions. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.**, v. 118, p. 105–112, 2016.

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.

FOLEY, L. et al. Investigation of the Physical, Chemical and Microbiological Stability of Losartan Potassium 5 mg/mL Extemporaneous Oral Liquid Suspension. **Molecules**, v. 26, p. 1-9, 2021.

FREED, A. L. et al. The development and stability assessment of extemporaneous pediatric formulations of Accupril. **International Journal of Pharmaceutics**, n. 304 (1-2), p. 135–144, 2005.

FRITZ, H. M. et al. Transcriptomic Analysis of *Toxoplasma* Development Reveals Many Novel Functions and Structures Specific to Sporozoites and Oocysts. **Plos One**, v. 7, n. 2, p. 1-18, 2012.

GARCÍA, M; MANZO, R; JIMENEZ-KAIRUZ, A. Extemporaneous benznidazole oral suspension prepared from commercially available tablets for treatment of Chagas disease in paediatric patients. **Tropical Medicine and International Health**, v. 20, n. 7, p. 864-870, 2015.

GUMUSTAS, M. et al. UPLC versus HPLC on Drug Analysis: Advantageous, Applications and Their Validation Parameters. **Chromatographia**, v. 76, p. 1365-1427, 2013.

HAYWOOD, A.; GLASS, B. Liquid dosage forms extemporaneously prepared from commercially available products – considering new evidence on stability. **Journal of PharmacyPharmaceutical Sciences**, v. 16 (3), p. 441-455, 2013.

HILAL-DANDAN, R.; BRUNTON, L. L. **Manual de farmacologia e terapêutica de Goodman & Gilman**. 2ª ed. Porto Alegre: AMGH, seção VII, p. 1464. 2015.

KAYE, A. Toxoplasmosis: Diagnosis, Treatment, and Prevention in Congenitally Exposed Infants. **Journal of Pediatric Health Care**, v. 25 (6), p. 355-364, 2011.

KAHAN, Y. et al. Characterization of Congenital Toxoplasmosis in Israel A 17-year Nationwide Study Experience. **Maternal-Neonatal Reports**; v. 39, p. 553-559, 2020.

KRIVOGORSKY, B. et al. Structure–activity studies of some berberine analogs as inhibitors of *Toxoplasma gondii*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, p. 2980–2982, 2012.

KULKARNI, V. S.; SHAW, C. **Use of Polymers and Thickeners in Semisolid and Liquid Formulations**. Essential Chemistry for Formulators of Semisolid and Liquid Dosages, p. 43–69. London: Elsevier, 2016.

LAI, B. et al. Molecular target validation, antimicrobial delivery, and potential treatment of *Toxoplasma gondii* infections. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 35, p. 14182–14187, 2012.

LAM, J. K. W. et al. Oral transmucosal drug delivery for pediatric use. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 73, p. 50–62, 2013.

LANG, K. **Fundamentos da Farmacotécnica**. Porto Alegre: SAGAH, 2018. Unidade 2, p. 63–69.

LINDENBERG, M.; KOPPB, S.; DRESSMAN, J. B. Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model list of Essential Medicines according to the biopharmaceutics classification system. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 58, p. 265–278, 2004.

LOPEZ, F. L. et al. The effect of administration media on palatability and ease of swallowing of multiparticulate formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 551, p. 67–75, 2018.

MAHAMED, D. A. et al. CD73-generated adenosine facilitates *Toxoplasma gondii* differentiation to long-lived tissue cysts in the central nervous system. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 40, p. 16312–16317, 2012.

MARINHO, R. N. A; CABRAL, C. H. K. Estudo de adaptações de formulações farmacêuticas em um hospital universitário pediátrico. **Revista Brasileira de Farmácia Hospitalar e Serviços de Saúde**, v. 5, n. 3, p. 12–17, 2014.

MARTIN, J. **British National Formulary for children**. London: BMJ Group, the Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, and RCPCH Publications Ltd; 2011.

MARTINS, A. C. M. et al. Núcleo de Telessaúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. **Telecondutas: Toxoplasmose na gestação**. Rio Grande do Sul: Porto Alegre, 16 p., 2019. Disponível em: < <https://www.ufrgs.br/telessaunders/noticias/telecondutas-toxoplasmose-na-gestacao/> >. Acesso em: 20 de março de 2020.

MENDES, C. et al. Physicochemical and microbiological stability studies of extemporaneous antihypertensive pediatric suspensions for hospital use. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 18, n. 4, p. 813–820, 2013.

MILLNE, C.; BRUSS, J. B. The economics of pediatric formulation development for off-patent drugs. **Clinical Therapeutics**, v. 30, n. 11, p. 2133-2145. 2008.

MINUZZI, C. et al. Contaminated water confirmed as source of infection by bioassay in an outbreak of toxoplasmosis in South Brazil. **Wiley Online Library**, v. 0, p. 1-6, 2020.

MONTEIRO, A. **Segurança dos excipientes utilizados nos medicamentos genéricos numa população pediátrica**. 2013. 156 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)–Universidade da Beira Interior, Covilhã, 2013.

MONTOYA, J.; LIESENFELD, O. Toxoplasmosis. **The Lancet**, v. 363, p. 1965–1976, 2004.

MUSKO, M.; SZNITOWSKA, M. Use of compounded dispersing media for extemporaneous pediatric syrups with candesartan cilexetil and valsartan. **Acta Pharm**, v. 64, p. 463–474, 2014.

NISSEN, L. M.; HAYWOOD, A.; STEADMANN, K. J. Solid medication dosage form modification at the bedside and in the pharmacy of queensland hospitals. **Journal of Pharmacy Practice and Research**, v. 39, n. 2, p. 129-134. 2009.

PATHMANATHAN, U. et al. Stability of sulfadiazine oral liquids prepared from tablets and powder. **J Pharm Pharmaceut Sci**, v. 7, n. 1, p. 84-87, 2004.

PEREIRA, A. C. S. et al. Medicamentos magistrais em recém-nascidos e crianças hospitalizados. **Revista Paulista de Pediatria**, 34 (4), p. 403-407, 2016.

PMSM. Prefeitura e Governo do Estado atualizam Boletim de Investigação do Surto de Toxoplasmose. **Prefeitura Municipal de Santa Maria**, 2018. Disponível em: <<http://www.santamaria.rs.gov.br/saude/noticias/17609-prefeitura-e-governo-do-estado-atualizam-boletim-de-investigacao-do-surto-de-toxoplasmose>>. Acesso em: 10 de dezembro de 2021.

PROVENZA, N. et al. Design and physicochemical stability studies of paediatric oral formulations of sildenafil. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 460, p. 234–239, 2014.

ROBERT-GANGNEUX, F. It is not only the cat that did it: How to prevent and treat congenital toxoplasmosis. **Journal of Infection**, v. 68, p. 125-133, 2013.

RORMAN, E.; ZAMIR, C. S.; BEN-DAVID, H. Congenital toxoplasmosis – prenatal aspects of *Toxoplasma gondii* infection. **Reproductive Toxicology**, v. 21, p. 458–472, 2006.

ROSSI, R. C. **Desenvolvimento e validação de ensaio de dissolução para o ritonavir cápsulas utilizando correlação *in vitro-in vivo***. 2006. 117 p. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

ROUAZ, K. et al. Excipients in the Paediatric Population: A Review. **Pharmaceutics**, v. 13, p. 1-44, 2021.

- ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, E. M. **Handbook of pharmaceutical excipients**. 6 ed. London: Pharmaceutical Press, 2009. 888 p.
- RUSSEL, C. et al. Paediatric drug development of ramipril: reformulation, in vitro and in vivo evaluation. **Journal of Drug Targeting**, v. 23, n.9, p. 854–863, 2015.
- SALGADO, A. C. et al. Stability of spironolactone in an extemporaneously prepared aqueous suspension: the importance of microbiological quality of compounded paediatric formulations. **European Journal of Hospital Pharmacy Science**, v. 11, p. 68-73, 2005.
- SANTOS, L.; HEINECK, I. Drug utilization study in pediatric prescriptions of a university hospital in southern Brazil: off-label, unlicensed and high-alert medications. **Farmácia Hospitalaria**, v. 36, n. 4, p. 180-186, 2012.
- SANTOVEÑA, A. et al. Study of quality and stability of ursodeoxycholic acid formulations for oral pediatric administration. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 477, p. 32-38, 2014.
- SANTOVEÑA, A. et al. Formulation design of oral pediatric Acetazolamide suspension: dose uniformity and physico-chemical stability study. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 21, p. 1-7, 2016.
- SHARGEL, L.; YU, A. B. C. **Applied Biopharmaceutical and Pharmacokinetics**. 5th edição, USA: Appleton & Lange, 2005.
- SILVA, A. L. M.; SOBRINHO, J. L. S.; NETO, P. J. Desenvolvimento de método analítico por CLAE em comprimidos de benznidazol para a Doença de Chagas. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1163-1166, 2007.
- SILVA, A. et al. Presença de excipientes com potencial para indução de reações adversas em medicamentos comercializados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 3, p. 397-405, 2008.
- SILVA, M. R. M. et al. Preparation of extemporaneous oral liquid in the hospital pharmacy. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 56, p. 1-15, 2020.
- SIVANESWARI, S. et al. Physicochemical characterization of taste masking levetiracetam ion exchange resins in the solid state and formulation of stable liquid suspension for pediatric use. **Beni-suef university journal of basic and applied sciences**, v. 5, p. 126-133, 2016.
- SOUZA JR., A. et al. Toxic excipients in medications for neonates in Brazil. **European Journal of Pediatrics**, v. 173, n. 7, p. 935-945, 2014.
- STORPIRTIS, S. et al. **Farmácia clínica e atenção farmacêutica**. Rio de Janeiro, cap. 18, p. 178-180, 2008.
- TONAZIO, L. et al. Reações adversas dos adjuvantes farmacêuticos presentes em medicamentos para uso pediátrico. **HU Revista**, v. 37, n. 1, p. 63-68, 2011.

USP. **The United States Pharmacopeia**. Rockville: United States Pharmacopeia Convention. 2016. p. 1202-1222; 5941.

VALENTE, S. C. C. G. J. **Formas farmacêuticas em pediatria**. 2014. 80 p. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas)-Universidade do Algarve, Faro, 2014.

VENTURA, D. M. **Desenvolvimento farmacotécnico de formulações de suspensões de hidroclorotiazida obtidas por transformação de formas farmacêuticas**. 2011. 98 p. Dissertação (Mestrado em ciências aplicadas a produtos para saúde)-Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2011.

WAN, M.; HASHIMI, A. A.; BATCHELOR, H. Pharmacy and formulation support for paediatric clinical trials in England. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 511, n. 2, p. 1163-1168, 2016.

YOON, A. S. et al. Physicochemical and Microbiological Stability of the Extemporaneous Sildenafil Citrate Oral Suspension. **Scientia Pharmaceutica**, v. 83, p. 659-670, 2015.