

FARMANGUINHOS
INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM FÁRMACOS
CURSO EM TECNOLOGIAS INDUSTRIAIS FARMACÊUTICAS

ANA PAULA FELIX DE LIMA MATTOS

**PROPOSTA DE ESTUDO DE DEGRADAÇÃO FORÇADA E
DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO INDICATIVO DE ESTABILIDADE PARA
O INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO PRAZQUANTEL E PRODUTO
ACABADO**

RIO DE JANEIRO

2017

ANA PAULA FELIX DE LIMA MATTOS

**PROPOSTA DE ESTUDO DE DEGRADAÇÃO FORÇADA E
DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO INDICATIVO DE ESTABILIDADE PARA
O INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO PRAZICUANTEL E PRODUTO
ACABADO**

Monografia apresentada pela acadêmica Ana Paula F. L. Mattos como exigência do curso de pós-graduação em Tecnologias Industriais Farmacêuticas de Farmanguinhos – Instituto de Tecnologia em Fármacos sob a orientação da Dra. Margareth B. C. Gallo.

RIO DE JANEIRO

2017

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Medicamentos e Fitomedicamentos/ Farmanguinhos / FIOCRUZ - RJ

M435p Mattos, Ana Paula Felix de Lima

Proposta de estudo de degradação forçada e desenvolvimento de método indicativo de estabilidade para o insumo farmacêutico ativo Praziquantel e produto acabado. / Ana Paula Felix de Lima Mattos. – Rio de Janeiro, 2017.

xi, 49 f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Margareth Borges Coutinho Gallo

Monografia (Especialização) – Instituto de Tecnologia em Fármacos-Farmanguinhos, Pós-graduação em Tecnologia Industriais Farmacêuticas, 2017.

Bibliografia: f. 34-37

1. Método Indicador de Estabilidade. 2. Praziquantel. 3. Estudo de Degradação Forçada. I. Título.

CDD 615.1

ANA PAULA FELIX DE LIMA MATTOS

PROPOSTA DE ESTUDO DE DEGRADAÇÃO FORÇADA E
DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO INDICATIVO DE ESTABILIDADE PARA
O INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO PRAZIQUANTEL E PRODUTO
ACABADO

Orientadora: Dra. Margareth Borges Coutinho Gallo

BANCA EXAMINADORA

MSc. Nélon Mendes Nunes/FIOCRUZ

MSc. Erika Bachini Fonseca/LFM

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Maria Lima e Adailton F. de Lima, por suas dedicações e esforços para que eu pudesse realizar meus sonhos.

Ao meu esposo, Guilherme Mattos Andrade, por todo apoio, amor e incentivo.

Aos colegas do Laboratório de Desenvolvimento Analítico, pela disposição em me ajudar e por todo aprendizado.

À minha orientadora, Margareth Borges Coutinho Gallo, por aceitar orientar-me e compartilhar seu conhecimento, e por todo tempo dedicado a isto.

Agradeço sobretudo a Deus, autor da minha vida, por me permitir chegar até aqui e me ensinar a trilhar os seus caminhos.

“Há verdadeiramente duas coisas diferentes: saber e crer que se sabe.
A ciência consiste em saber; em crer que se sabe reside a ignorância.

Hipócrates

RESUMO

O Praziquantel (PZQ) é um anti-helmíntico amplamente utilizado para tratamento da esquistossomose. Esta doença afeta mais de 200 milhões de pessoas ao redor do mundo, principalmente países em desenvolvimento, incluindo 90 milhões de crianças na idade escolar e pré-escolar. PZQ está presente na lista de medicamentos infantis essenciais da OMS (Organização Mundial da Saúde). Por este motivo, várias companhias farmacêuticas formaram um consórcio, entre elas Farmanguinhos, para o desenvolvimento de uma nova formulação dirigida a este grupo particular de pacientes. Para conceder o registro de novas formulações e o seu direito de comercialização, a agência regulatória brasileira, ANVISA, exige que se faça a avaliação da qualidade do medicamento, sendo relevante o conhecimento de sua estabilidade química e física até o fim de seu prazo de validade. O monitoramento dos produtos de degradação está incluído nesta avaliação, para garantir a segurança, biodisponibilidade e eficiência da droga. Logo, o estudo de degradação forçada é realizado de modo a submeter o princípio ativo e produto final a condições de estresse extremo para se formar vários produtos de degradação com o intuito de se desenvolver um método analítico indicador de estabilidade (MIE), o qual será utilizado para o controle daquelas possíveis impurezas na rotina dos estudos de estabilidade. O objetivo deste trabalho foi compilar dados na literatura de metodologias analíticas e condições de degradação do PZQ a fim de apresentar uma proposta para condução do estudo de degradação forçada do fármaco, placebo e produto e o desenvolvimento do MIE.

Palavras-chave: Método indicador de estabilidade, Praziquantel, estudo de degradação forçada.

ABSTRACT

Praziquantel (PZQ) is an anthelmintic widely used for the treatment of schistosomiasis. This disease affects more than 200 million people worldwide, mainly developing countries, comprising 90 million pre-school and school-age children. PZQ is included in the WHO (World Health Organization) List of Essential Medicines for Children. For this reason, a Consortium of Pharmaceutical Companies was formed, including Farmanguinhos, to develop a new formulation of PZQ directed to this particular group of patients.

To grant the register of a new drug product (DP) and the right of commercialization, the Brazilian regulatory agency, ANVISA, demands the evaluation of quality and the knowledge of the chemical and physical stability of the new DP until the end of its shelf life period. Monitoring of degradation products is included in that evaluation in order to guarantee the new DP safety, bioavailability and efficiency. Thus, the forced degradation study is performed in order to expose the product to extreme stress conditions to produce a number of degradation products that will be used in the development of an analytical stability indicating method (SIM), which is employed to investigate those impurities in the routine of stability studies. The goal of this work was to compile data in the literature for analytical methodologies and degradation conditions of PZQ in order to present a proposal to conduct the degradation study of the drug substance, placebo and drug product to develop the SIM method.

Keywords: Stability indicating method, Praziquantel, forced degradation study.

SUMÁRIO

RESUMO	VI
ABSTRACT	VII
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	IX
LISTA DE TABELAS	X
LISTA DE FIGURAS	XI
1 INTRODUÇÃO	1
2 JUSTIFICATIVA	4
3 OBJETIVO	5
4 REFERENCIAL TEÓRICO	6
4.1 Estudo de Degradação Forçada	6
4.1.1 <i>CLASSIFICAÇÃO DAS IMPUREZAS</i>	6
4.1.2 <i>OBJETIVOS DO ESTUDO</i>	7
4.1.3 <i>CONDIÇÕES DO ESTUDO</i>	8
4.1.4 <i>PERCÉNTUAIS A SEREM ALCANÇADOS</i>	10
4.1.5 <i>ETAPAS DO ESTUDO</i>	10
4.1.6 <i>REAÇÕES DO ESTUDO</i>	11
4.1.7 <i>RELATÓRIO DO ESTUDO</i>	17
4.2 Praziquantel	19
4.2.1 <i>NOMENCLATURA</i>	19
4.2.2 <i>DADOS FÍSICO-QUÍMICOS DA MOLÉCULA</i>	19
4.2.3 <i>POSSÍVEIS VIAS DE DEGRADAÇÃO DA MOLÉCULA</i>	21
4.2.4 <i>CARACTERÍSTICAS FARMACOLÓGICAS</i>	23
4.2.5 <i>PRINCIPAIS IMPUREZAS CONHECIDAS</i>	23
4.2.6 <i>PRAZIQUANTEL X RDC 53/2015</i>	24
5 METODOLOGIA	26
6 RESULTADOS E DISCUSSÕES	27
6.1 Propostas de metodologias preliminares de análise	27
6.2 Condições para o estudo de degradação	28
7 CONCLUSÃO	33
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

DAD – *Diode Array Detector*

DPR – Desvio Padrão Relativo

DMF – *Drug Master File*

EP – *European Pharmacopeia*

FB – Farmacopeia Brasileira

GEPRE – Gerência de Pós-Registro

HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*

ICH – *International Conference on Harmonization*

IFA – Insumo Farmacêutico Ativo

IUPAC - *International Union of Pure and Applied Chemistry*

k' – Fator de capacidade

N – Número de pratos teóricos

OMS – Organização Mundial da Saúde

PZQ - Praziquantel

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

RE – Resolução

USAN – *United States Adopted Name*

USP – *United States Pharmacopeia*

WHO – *World Health Organization*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Exemplo de procedimentos para condução dos estudos de estresse	9
Tabela 2. Metodologias para estudo de degradação forçada	16
Tabela 3. Propriedades físicas do Praziquantel.....	20
Tabela 4. Estado da arte de métodos indicativos de estabilidade para análise do Praziquantel	27
Tabela 5. Estado da arte do estudo de degradação forçada do Praziquantel .	28
Tabela 6. Proposta de metodologia para o estudo de degradação forçada do Praziquantel IFA e Produto	31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma – Hidrólise ácida e básica.....	13
Figura 2. Mecanismo de reação oxidativa não radicalar de grupo amina ou sulfeto em presença de peróxido de hidrogênio.....	14
Figura 3. Fluxograma – Degradação Oxidativa	14
Figura 4. Fluxograma – Degradação fotolítica.....	15
Figura 5. Fórmula Estrutural do Praziquantel	20
Figura 6. Formas enantioméricas de Praziquantel (PZQ)	21
Figura 7. Mecanismo de hidrólise de grupo amida	21
Figura 8. Mecanismo de degradação oxidativa do clopidogrel	22
Figura 9. Mecanismo de decomposição de um N-óxido por eliminação de Cope	22
Figura 10. Fórmula estrutural da impureza A de Praziquantel.....	23
Figura 11. Fórmula estrutural da impureza B de Praziquantel.....	24
Figura 12. Fórmula estrutural da impureza C de Praziquantel	24
Figura 13. Proposta de rotas de degradação do Praziquantel	30

1 INTRODUÇÃO

A estabilidade dos medicamentos é definida como o tempo durante o qual o insumo farmacêutico ativo mantém suas características dentro dos limites especificados (Silva et al., 2009), e depende de fatores ambientais como temperatura, umidade e luz, além de outros fatores relacionados ao produto, como propriedades físicas e químicas das substâncias ativas e excipientes farmacêuticos, forma farmacêutica e sua composição, processo de fabricação, tipo e propriedades dos materiais de embalagem (Brasil, 2005). Pode também ser definida como o período de tempo compreendido entre o momento no qual o produto está sendo fabricado e aquele em que sua potência está reduzida a não mais do que 10%, desde que os produtos de alteração estejam todos seguramente identificados e previamente reconhecidos seus efeitos (Taborianski, 2003; Vehabovic et al., 2003; Stulzer & Silva, 2006).

No Brasil, a RE nº 01/2005 (Brasil, 2005) preconiza a realização dos estudos de estabilidade de produtos farmacêuticos para prever, determinar ou acompanhar o seu prazo de validade, com a finalidade de garantir a integridade química, física, microbiológica, terapêutica e toxicológica do fármaco e da forma farmacêutica dentro dos limites especificados, sob influência dos fatores ambientais em função do tempo (Matthews, 1999; Lucas et al., 2004; Ansel et al., 2007).

Os estudos de estabilidade em medicamentos produzem evidências sobre como a qualidade do produto varia com o tempo sob a influência destes fatores permitindo, assim, a determinação do prazo de validade e das recomendações de armazenamento (ICH, 2003).

A RE nº 01/2005 (Brasil, 2005) determina que os estudos de estabilidade devem contemplar a quantificação de produtos de degradação utilizando-se um método analítico eficiente. Em consonância com esta resolução, a RDC 166/2017 (Brasil, 2017b), que define os parâmetros para a validação de métodos analíticos, estabelece a necessidade de submeter os medicamentos a condições de estresse para produzir sua respectiva degradação para, assim, provar a seletividade e poder indicativo de estabilidade do método analítico desenvolvido. Produtos de degradação são impurezas resultantes de alterações químicas que surgem no processo de fabricação e/ou armazenamento do medicamento,

devido aos efeitos da luz, temperatura, pH, umidade, das reações com os excipientes ou devido ao contato com a embalagem primária (ICH, 2003).

O estudo de degradação forçada de medicamentos, ou teste de estresse, além de auxiliar na identificação de prováveis produtos de degradação, podem também ajudar a definir as vias de degradação e a estabilidade intrínseca da molécula (ICH, 1999).

A realização do estudo de degradação forçada, bem como sua análise crítica, é de extrema importância para o registro, renovações e alterações pós-registro (Silva et al., 2009). O não cumprimento pode gerar exigência técnica ou até mesmo o indeferimento do registro do produto.

Para normatizar os estudos de degradação forçada no país, a Anvisa lançou algumas consultas públicas e, em 2015, aprovou a RDC nº 53/2015 (Brasil, 2015a), que estabelece parâmetros para a notificação, identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos com substâncias ativas sintéticas e semissintéticas, classificados como novos, genéricos e similares, entre outras providências.

Alguns produtos de degradação podem interferir na ação farmacológica do fármaco ou produzir reações adversas no paciente. Portanto, dentre todas as vantagens relacionadas à condução dos estudos de estabilidade e estudos de estresse, deve-se ressaltar que tais estudos visam demonstrar que os possíveis produtos de degradação formados não irão interferir na qualidade, segurança e eficácia do medicamento desenvolvido, garantindo a segurança do paciente.

O Praziquantel (PZQ), fármaco objeto do presente trabalho, é um anti-helmíntico de amplo espectro, utilizado principalmente para tratar a esquistossomose, considerada doença negligenciada.

A esquistossomose é uma doença que atinge principalmente a população de baixo poder aquisitivo, afeta aproximadamente 240 milhões de pessoas em todo o mundo e pode levar a problemas crônicos de saúde. A infecção é adquirida através do contato com água contaminada com a forma larval (cercária) do parasita, sendo prevalente em áreas tropicais e subtropicais sem água potável e saneamento básico. A forma adulta vive no trato urinário e intestino (OMS, 2017). A esquistossomose urogenital é causada por *Schistosoma haematobium* e a intestinal por *S. guineensis*, *S. intercalatum*, *S. mansoni*, *S. japonicum*, e *S. mekongi* (OMS, 2017).

A estratégia da OMS para controlar a doença é utilizar anti-helmínticos tanto no tratamento quanto na prevenção, como é o caso do PZQ, albendazol e ivermectina, os quais podem ser usados em conjunto ou separadamente (OMS, 2017). Porém, estes medicamentos são comercializados em formas farmacêuticas não apropriadas para o público infantil. Somando-se a este fato, o PZQ tem gosto bastante amargo e não é bem aceito pela população. Daí o interesse em se desenvolver uma nova formulação voltada para o tratamento das crianças.

2 JUSTIFICATIVA

O desenvolvimento de uma nova formulação de Praziquantel dirigida ao tratamento infantil tem sido realizado por um consórcio de empresas farmacêuticas do qual Farmanguinhos faz parte.

Para que o produto obtenha o seu registro aprovado pela ANVISA, são necessários, dentre outras exigências, o desenvolvimento e validação de métodos analíticos para o controle de qualidade do medicamento, dos quais fazem parte o estudo de degradação forçada e o MIE, que exigem investimentos com pessoal, equipamentos, substâncias de referência, entre outros itens utilizados no laboratório.

Os resultados do estudo de degradação forçada servem de suporte para o desenvolvimento e validação da metodologia analítica que será usada para monitorar o IFA e os produtos de degradação durante o estudo de estabilidade. A etapa de planejamento bem como a pesquisa bibliográfica são essenciais para a realização de qualquer estudo pois, se bem executadas, direcionam de maneira eficiente os testes a serem realizados, podendo minimizar tempo e gastos com reanálises.

Tendo em vista o exposto acima, o estudo do estado da arte é fundamental para a definição das condições iniciais dos testes de estresse a serem executados para que haja degradação do produto e a avaliação do seu perfil de degradação por meio do método indicador de estabilidade a ser desenvolvido.

3 OBJETIVO

O presente trabalho visa apresentar uma proposta para a condução do estudo de degradação forçada do Praziquantel (IFA, placebo e produto) e para o desenvolvimento do método indicativo de estabilidade, baseada na legislação vigente e em dados coletados na literatura.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 Estudo de Degradação Forçada

A segurança de um medicamento depende não somente das propriedades toxicológicas do fármaco, mas também de suas impurezas (Deepti, 2013).

A preocupação das agências reguladoras e indústrias farmacêuticas com a eficácia e segurança do medicamento, além da qualidade, tem levado à criação de requerimentos relacionados aos produtos de degradação.

Produtos de degradação são considerados impurezas, sendo geralmente substâncias orgânicas provenientes de alterações químicas que podem ser resultantes da exposição à luz, temperatura, pH, umidade, além das características inerentes ao fármaco, da reação com os excipientes ou com a embalagem primária. Podem ser ainda resultantes do processo de síntese, estocagem e fabricação da forma farmacêutica (Melo, 2012).

As impurezas, por sua vez, são consideradas como qualquer componente químico presente no fármaco que não faça parte da estrutura química definida para a substância ativa, ou ainda qualquer componente presente no medicamento que não seja a entidade química definida como a substância ativa ou excipiente(s) da formulação farmacêutica (ICH, 1999). Dessa forma, o perfil de impurezas é a descrição de todas impurezas presentes em um fármaco. O conhecimento desse perfil é de extrema importância para diferenciar as impurezas de síntese dos produtos de degradação e, assim, desenvolver um método analítico que seja indicativo de estabilidade (Melo, 2012).

4.1.1 Classificação das impurezas

O ICH (*International Conference on Harmonisation*) possui alguns guias relacionados às impurezas em fármacos e medicamentos. Um de seus guias, o “Q3A Impurities in New Drug Substances” (ICH, 2006b), classifica as impurezas como impurezas orgânicas, inorgânicas e solventes residuais, as quais serão definidas nas linhas que se seguem.

a) Impurezas orgânicas (relacionadas ao processo e ao produto)

As impurezas orgânicas podem ser oriundas do processo de produção e/ou estocagem do fármaco. Podem ser impurezas identificadas ou desconhecidas, voláteis e não-voláteis, e incluem:

- Materiais de partida (relacionados à síntese)
- Subprodutos
- Intermediários sintéticos
- Produtos de degradação

b) Impurezas inorgânicas

Impurezas inorgânicas geralmente são oriundas do processo de produção. Normalmente são conhecidas e identificadas, e incluem:

- Reagentes, ligantes e catalisadores;
- Metais pesados ou outros metais residuais;
- Sais inorgânicos.

c) Solventes residuais

Solventes são líquidos orgânicos ou inorgânicos usados como veículo no preparo de soluções e suspensões na síntese da substância ativa ou do medicamento. Desde que sejam de toxicidade conhecidas, a seleção do controle apropriado é facilmente atendida.

4.1.2 Objetivos do estudo

Os estudos de degradação forçada são realizados de modo a viabilizar a geração de produtos de degradação através da exposição do insumo farmacêutico ativo e produto acabado a condições de estresse, a fim de alcançar os seguintes objetivos listados abaixo (Alcântara, 2013):

- Estabelecer vias de degradação de fármacos e medicamentos;
- Diferenciar os produtos de degradação que estão relacionados com o fármaco daqueles que são gerados a partir de excipientes e/ou adjuvantes numa formulação;
- Elucidar a estrutura dos produtos de degradação;
- Determinar a estabilidade intrínseca de um fármaco na formulação;

- Elucidar os mecanismos de degradação, tais como hidrólise, oxidação, termólise ou fotólise do fármaco e do medicamento;
- Desenvolver um método analítico indicativo de estabilidade;
- Compreender as propriedades físico-químicas das moléculas do fármaco;
- Gerar formulações mais estáveis;
- Produzir um perfil de degradação semelhante ao que seria observado em um estudo formal de estabilidade, sob as condições preconizadas pela RDC 53/2015 (Brasil, 2015a).
- Resolver problemas relacionados à estabilidade.

4.1.3 Condições do estudo

Os estudos de degradação forçada são realizados na forma sólida ou em solução do medicamento e em condições mais severas do que as utilizadas nos estudos formais de estabilidade. Normalmente se conduz o estudo utilizando apenas um lote do material, submetendo-o a condições para reações termolíticas, hidrolíticas, oxidativas e fotolíticas (Reynolds et al., 2002).

O guia ICH Q1A intitulado como “Stability Testing of New Drug Substances and Products” (ICH, 2003) sugere que o estudo do efeito da temperatura nos estudos de degradação forçada seja realizado com temperaturas 10°C acima da temperatura utilizada no estudo de estabilidade acelerada e que a umidade relativa (UR) utilizada seja de 75% ou mais. Porém, nenhum detalhe é fornecido de como proceder um estudo de oxidação e hidrólise em diferentes valores de pH. Dessa forma, os profissionais apresentam dificuldades para definir um padrão de condução dos testes realizados num estudo de degradação forçada (Alsante et al., 2003; ICH, 2003).

Alguns estudos, como Ngwa (2010) e Brummer (2011), propõem parâmetros para auxiliar na definição e no delineamento dos procedimentos para realização dos testes, os quais dependem do estado físico do fármaco ou do produto farmacêutico, conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1. Exemplo de condições para condução dos estudos de estresse

Condição de estresse	Exemplos	Fármaco	Produto	Placebo
Ácido/Base	0,01 a 0,1N	1 a 7 dias	24 a 48 horas	24 a 48 horas
Oxidativa	0,3% H ₂ O ₂	Poucas horas a 7 dias	24 a 48 horas	24 a 48 horas
Luz	1200 Lux h	> 48 horas	> 48 horas	> 48 horas
Temperatura	10 a 70°C	Até 3 semanas	Até 3 semanas	Até 3 semanas
Temperatura/umidade	10 a 70°C e 60 a 90% UR	Até 3 semanas	Até 3 semanas	Até 3 semanas

Adaptada de Brummer, 2011

O guia nº 4/2015 (Brasil, 2015b), traz exemplos de condições de estresse para a realização do estudo de degradação forçada, conforme descrito abaixo:

“Recomenda-se que o estudo seja realizado no placebo, no produto e no(s) IFA(s) isolado(s) nas mesmas condições, e no caso das associações em dose fixa, recomenda-se que sejam executados também associados e na formulação nas mesmas condições testando-se, quando aplicável e possível, cada uma das condições abaixo:

- 1. Ácida, utilizando-se uma solução tampão em pH abaixo de 7,0 ou um ácido mineral, como ácido clorídrico (HCl);*
- 2. Alcalina, utilizando-se uma solução tampão em pH acima de 7,0 ou um hidróxido de metal alcalino, como hidróxido de sódio (NaOH);*
- 3. Oxidante, usando-se peróxido de hidrogênio (H₂O₂) ou outro agente oxidante;*
- 4. Aquecimento (térmica seca), devendo ser feito sem aumento de umidade no ambiente, sem dissolver o produto;*
- 5. Umidade (térmica úmida), devendo ser feita no produto sem dissolver, mas com umidade relativa controlada e acima da umidade ambiente. Esta condição não precisa ser realizada no caso de formas farmacêuticas líquidas e semissólidas de base aquosa;*
- 6. Fotolítica, variando a quantidade de lux hora e/ou watt hora por metro quadrado; e*
- 7. Sob influência de íons de metais de transição, geralmente soluções de Ferro III ou Cobre II”.*

4.1.4 Percentuais a serem alcançados

A RDC 53/2015 (Brasil, 2015a) traz os requerimentos de percentual degradado, que deve ser atingido ou justificado para que seja aceito pela agência:

- *Os testes devem promover uma degradação superior a 10% (dez por cento) e inferior àquela que levaria à degradação completa da amostra, comprometendo o teste.*
- *Nos testes em que a degradação for inferior a 10% (dez por cento), a empresa deve apresentar justificativa técnica fundamentada.*

4.1.5 Etapas do estudo

A primeira etapa do estudo deve ser a pesquisa bibliográfica detalhada sobre o(s) princípio(s) ativo(s) e excipientes utilizados.

São fontes bibliográficas desejáveis para a pesquisa anterior ao início do estudo:

- Arquivo Mestre do Fármaco (DMF), em especial as partes referentes ao perfil de impurezas e ao estudo de degradação forçada, realizado pelo fabricante do IFA;
- Literatura científica, em especial artigos que mencionem o desenvolvimento de métodos indicativos de estabilidade para o(s) princípio(s) ativo(s) envolvido(s), impurezas clinicamente relevantes e incompatibilidade com determinados excipientes;
- Compêndios oficiais.

A finalidade da pesquisa bibliográfica prévia é obter as seguintes informações:

- Grupos funcionais da molécula do(s) ativo(s) mais suscetíveis a degradação ou interação com excipientes, por exemplo, ésteres ou aminas;
- Excipientes que devem ser evitados por potencial interação química;
- Produtos de degradação teoricamente possíveis, considerando as reações mais comuns dos grupos funcionais do(s) IFA(s);
- Probabilidade de que o grupo cromóforo ou outro grupo funcional responsável pela detecção do IFA seja degradado, formando impurezas que possam não ser eficientemente detectadas pelo método proposto;
- Previsibilidade de produtos de degradação com alertas estruturais para toxicidade e/ou genotoxicidade e

- Impurezas de síntese, que não precisam ser quantificadas no método, mas devem ser separadas de maneira eficiente de produtos de degradação.

Após a realização da pesquisa bibliográfica e baseando-se nela, devem-se definir os experimentos a serem realizados, além das condições e tempo de exposição. As condições de estresse são definidas com base nas características das moléculas, sendo que estas devem ser submetidas às seguintes condições de estresse: termodegradação a seco e úmida, hidrólise ácida, hidrólise básica, oxidação, fotólise e exposição a íons metálicos. O estudo deve ser executado no IFA, medicamento e placebo do medicamento para eliminar qualquer interferência nos resultados que possa ser interpretada como impureza.

4.1.6 Reações do estudo

4.1.6.1 Termo degradação

Na degradação térmica seca, o material sólido é exposto ao aquecimento, porém sem umidade no ambiente e com o produto *in natura*, sem estar dissolvido em qualquer diluente (Brasil, 2015a).

As reações de degradação térmica são aquelas que geralmente ocorrem devido à exposição ao calor ou a temperaturas elevadas (Melo, 2012).

O aumento da temperatura acelera a decomposição química de drogas susceptíveis a este fator, portanto para condução dos estudos de degradação forçada utiliza-se temperatura maior do que a indicada para o estudo de estabilidade acelerada (>40°C), para que a formação dos produtos de degradação seja ainda mais acelerada, permitindo, assim, a verificação do perfil de degradação em um tempo reduzido (Florence & Attwood, 2003).

Na termodegradação úmida, o material é exposto sem ser dissolvido, mas com umidade relativa controlada e acima da umidade ambiente. Não é necessário realizar esta condição no caso de formas farmacêuticas líquidas e semissólidas de base aquosa (Brasil, 2015b).

4.1.6.2 Hidrólise neutra

Muitos fármacos são considerados instáveis na presença de água, por isso ela é considerada um dos principais catalisadores em reações de degradação. Por esse motivo, alguns medicamentos necessitam de intervenções durante a

formulação e armazenamento, para que a eficácia e estabilidade não sejam comprometidas.

O pH do meio também deve ser considerado na avaliação da instabilidade sob a condição de hidrólise, pois íons hidrogênio e hidroxila podem alterar o processo de degradação (Ansel et al., 2007).

Nas condições em que se utiliza apenas água como agente de hidrólise, a água vai agir como uma base e, neste caso, a taxa de decomposição pode ser lenta, pois reações em pH neutro são não-catalíticas e, por isso, podem demandar períodos muito longos sob condições de temperatura extrema para que haja formação de quantidades mensuráveis de produtos de degradação (Singh & Bakshi, 2000).

4.1.6.3 Hidrólise ácida

Também chamada de degradação ácida. A RDC 53/2015 (Brasil, 2015a) recomenda que seja feita utilizando-se uma solução tampão em pH abaixo de 7,0 ou em presença de um ácido mineral, como ácido clorídrico (HCl).

As condições de estresse iniciais são realizadas assumindo que o fármaco seja instável e, portanto, sujeito à degradação sob condições mais amenas. Dependendo dos resultados obtidos, a concentração do ácido, temperatura e o tempo utilizados podem ser aumentados ou reduzidos (Ver Figura 1; Singh & Bakshi, 2000).

4.1.6.4 Hidrólise básica

Para realizar o estudo de estresse em condição de hidrólise básica, ou degradação alcalina, utiliza-se principalmente solução tampão em pH acima de 7,0 ou um hidróxido de metal alcalino, como hidróxido de sódio (NaOH), sendo que muitas variações são observadas no tempo, concentração e na temperatura de exposição.

A Figura 1 ilustra um fluxograma útil para definição dos passos de degradação hidrolítica sob condições ácidas e básicas, proposto por Singh & Bakshi (2000).

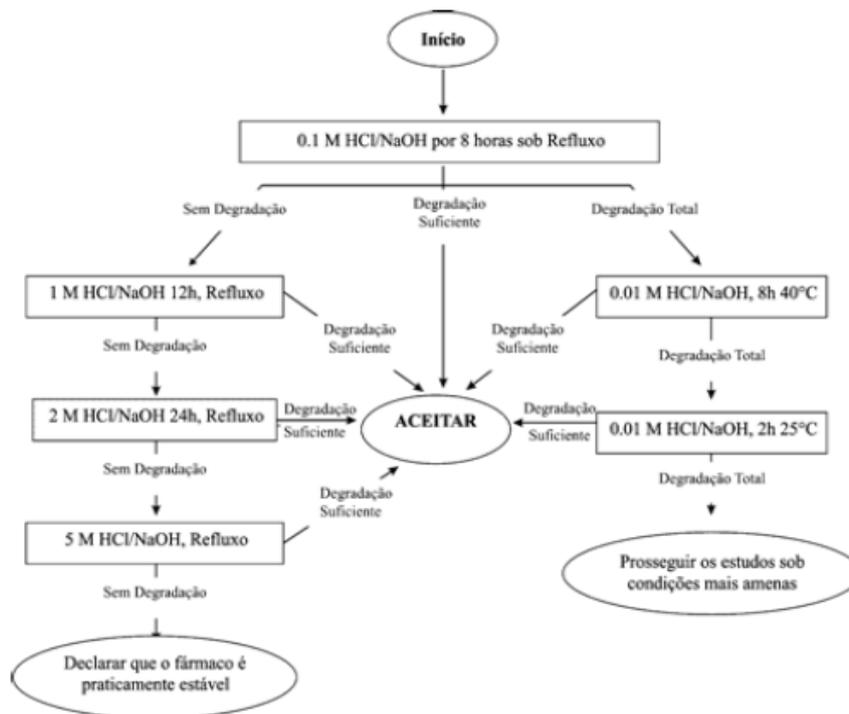


Figura 1. Fluxograma – Hidrólise ácida e básica
(Extraído de Singh, 2000)

4.1.6.5 Oxidação

A degradação oxidativa, ou oxidação, é considerada uma das principais causas de instabilidade de fármacos, principalmente dos fármacos das classes dos esteróides, antibióticos, vitaminas, óleos e gorduras (Florence & Attwood, 2003). Na vasta maioria dos casos, a reação ocorre espontaneamente devido à presença maciça de oxigênio molecular (O_2) no ar, sendo conhecida como auto oxidação. A condição fundamental para se iniciar a reação é a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS, em inglês) como o ânion radical superóxido, peróxido de hidrogênio e o radical livre hidroxila ($O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , and HO^{\cdot}), respectivamente. A formação destas espécies, em particular o radical livre hidroxila, pode ser catalisada por íons metálicos de transição, em particular o cobre II e ferro III, e a reação passa a ser conhecida como auto oxidação mediada por radical livre, sendo que o íon metálico tem o papel de doador de elétrons para ativar o oxigênio molecular e a formação de ROS (Li, 2012). A reação de oxidação também pode ocorrer pela presença de peróxido de hidrogênio sem a formação de radicais. Neste caso é conhecida como reação de oxidação não mediada por radicais. Nesta categoria, o mecanismo mais

significante na área farmacêutica é a oxidação de aminas e sulfetos e o passo chave é o ataque nucleofílico do tipo S_N2 destes grupos ao peróxido, como ilustrado na Figura 2 (Li, 2012).

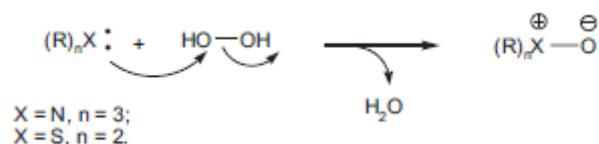


Figura 2. Mecanismo de reação oxidativa não radicalar de grupo amina ou sulfeto em presença de peróxido de hidrogênio
(Extraído de Li, 2012)

A concentração de peróxido utilizada varia entre 1 a 30%, sendo o peróxido de hidrogênio 3% o mais utilizado para promover as condições de estresse oxidativo. Na Figura 3, pode-se observar um fluxograma proposto por Singh & Bakshi (2000) para as degradações oxidativas.

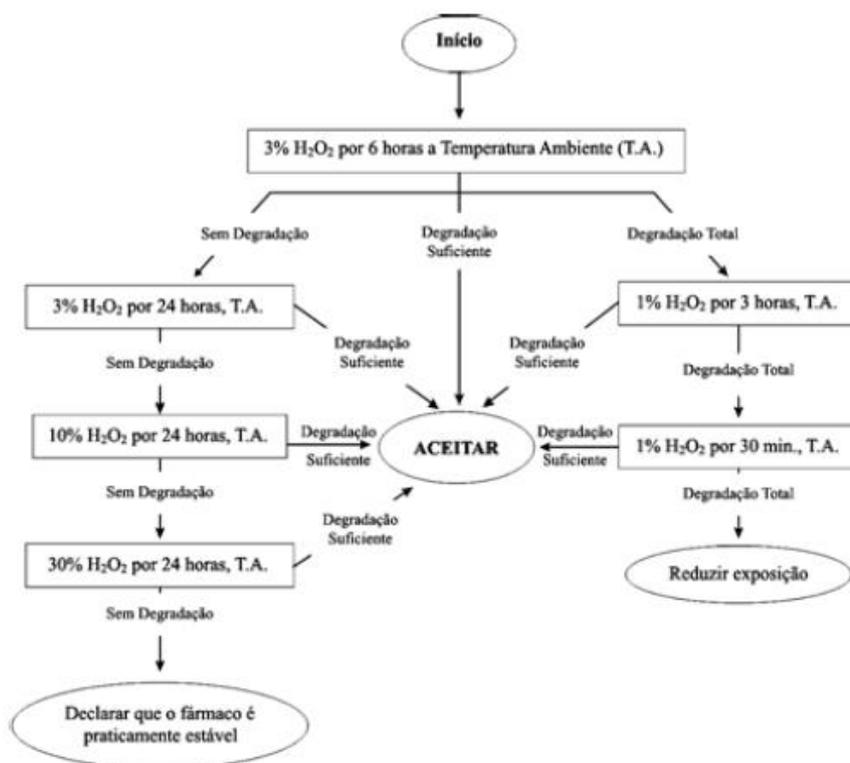


Figura 3. Fluxograma – Degradação Oxidativa
(Extraído de Singh, 2000)

4.1.6.6 Fotodegradação

A maioria dos fármacos apresenta máximos de absorção na região do ultravioleta do espectro eletromagnético. A radiação ultravioleta pode propiciar a clivagem de muitas ligações químicas, ocorrendo a degradação da molécula (Moriwaki et al., 2001).

Os fármacos podem sofrer exposição a comprimentos de onda curtas ou longas dentro da faixa de UV, ou luz fluorescente, sob temperatura ambiente. O período de exposição pode variar de algumas horas a vários meses, dependendo da intensidade da fonte luminosa.

O guia n° 4/2015 (Brasil, 2015b) indica que a degradação fotolítica deve ser conduzida variando a quantidade de lux hora e/ou watt hora por metro quadrado. O guia de fotoestabilidade do ICH recomenda expor as amostras a não menos que 1,2 milhões de lux h e uma energia ultravioleta integrada de 200 W h m² (ICH, 1999).

Na Figura 4, pode-se observar um fluxograma proposto por Singh & Bakshi (2000) para a degradação fotolítica:

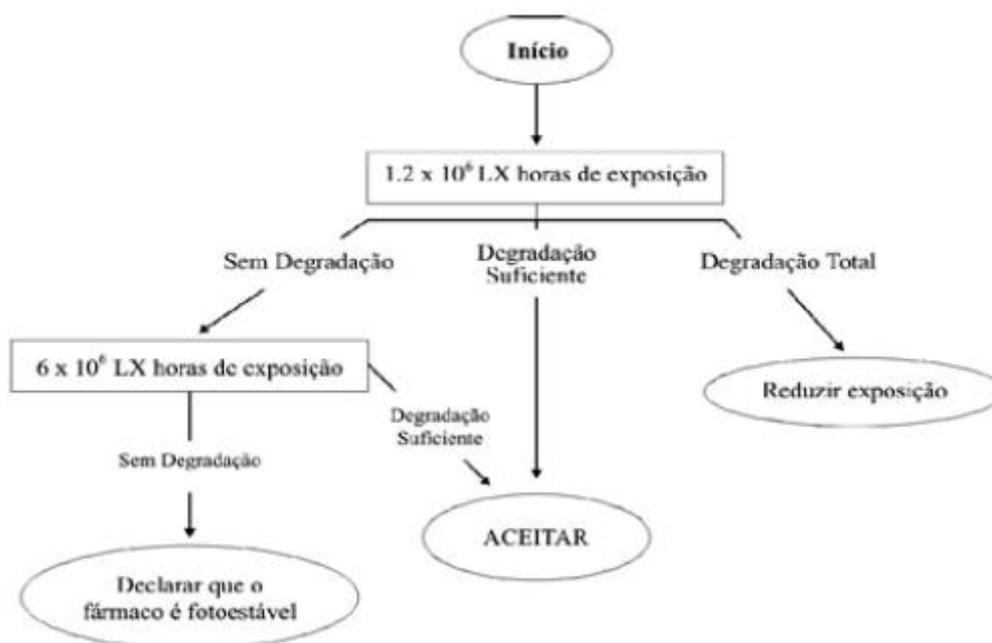


Figura 4. Fluxograma – Degradação fotolítica
(Extraído de Singh, 2000)

4.1.6.7 Exposição a íons metálicos

Segundo a ICH, a degradação por exposição a íons metálicos é opcional, porém de acordo com a RDC 53/2015 (Brasil, 2015a), tornou-se mandatória.

Esta é uma forma de degradação por oxidação, onde a adição de íons metálicos em soluções contendo o fármaco auxilia a verificação da tendência dos compostos à oxidação por vias alternativas à exposição ao peróxido de hidrogênio.

É realizada sob influência de íons de metais de transição, geralmente soluções de Ferro III ou Cobre II, na concentração de 0,05M (Boccardi, 2008).

Na Tabela 2, estão compiladas informações de guias, artigos e outras obras, nas quais existem recomendações sobre a condução do estudo de degradação forçada:

Tabela 2. Metodologias para estudo de degradação forçada

Tipo de degradação	Referência	Recomendações
Hidrólise ácida	ALSANTE et al, 2007	Utilizar solução de HCl ou H ₂ SO ₄ em concentração 0,1 a 1,0 M. Pode ser conduzida em solução ou suspensão.
	BAERTSCHI, 2005	Utilizar solução de HCl 0,1 N acima de 70°C durante 1 a 7 dias.
	SEHRAWAT; MAITHAIN; SINGH, 2010	Solução do fármaco em HCl 0,1 a 1,0 M a temperatura ambiente ou superior.
Hidrólise alcalina	ICH, 2003	Hidrólise em solução ou suspensão em uma larga faixa de pH.
	ALSANTE et al, 2007	Utilizar solução de NaOH, LiOH ou KOH em concentração 0,1 a 1,0 M.
	BAERTSCHI, 2005	Utilizar solução de NaOH 0,1 N e em tampão de pH 8,0 acima de 70°C durante 1 a 7 dias.
	SEHRAWAT; MAITHAIN; SINGH, 2010	Solução do fármaco em NaOH 0,1 a 1,0 M a temperatura ambiente ou maior.
Oxidativa	ICH, 2003	Apenas cita que, quando apropriado, deve-se incluir efeito da oxidação, sem citar o procedimento.

Tabela 2. Metodologias para estudo de degradação forçada

Tipo de degradação	Referência	Recomendações
	ALSANTE et al, 2007	Pode ser conduzido em atmosfera de O ₂ ou na presença de peróxidos. Recomenda-se a utilização de radicais livres.
	BAERTSCHI, 2005	Utilizar solução de H ₂ O ₂ em temperatura ambiente no escuro durante 1 a 7 dias.
	SEHRAWAT; MAITHAIN; SINGH, 2010	O ₂ + agente iniciador em ACN: H ₂ O (80:20) a 40°C por 1 a 7 dias. 0,3% a 3% de H ₂ O ₂ a temperatura ambiente por algumas horas por 7 dias protegido da luz.
Térmica	ICH, 2003	Incrementar 10°C ao estudo de estabilidade acelerado
	ALSANTE et al, 2007	Sólido: 50°C ou mais e umidade maior que 75%. Utilizar cinética de Arrhenius para determinar a temperatura e duração adequadas para a substância.
	REYNOLDS et. Al., 2002	Sólido: Verificar a energia de ativação necessária para conduzir um estudo com incremento de temperatura que represente um ensaio relativo ao estudo acelerado.
	BAERTSCHI, 2005	Sólido: Expor a 70°C durante uma semana Solução aquosa: Acima de 70°C durante 1 a 7 dias
	SEHRAWAT; MAITHAIN; SINGH, 2010	70°C e umidade 75% por mais de 2 semanas
Fotolítica	ICH, 1996	Expor as amostras a não menos que 1,2 milhões de lux/h e uma energia ultravioleta integrada de 200 W h m ² .
	ALSANTE et al, 2007	Utilizar 2 vezes o recomendado pelo guia ICH Q1B.
	BAERTSCHI, 2005	Expor a amostra sólida 2 a 3 vezes mais que o recomendado pelo ICH.

4.1.7 Relatório do estudo

O guia nº04/2015 (Brasil, 2015b) traz a recomendação do envio de relatório para a Anvisa contendo os seguintes dados:

1. Introdução, contendo a identificação dos grupos funcionais das moléculas que são mais suscetíveis a sofrer degradação e o método de análise utilizado;

2. Parte experimental, contendo:

a. Parâmetros (agente degradante, concentração, temperatura e tempo) que resultaram em degradação satisfatória para cada condição ou parâmetros máximos utilizados quando não foi possível obter degradação significativa, juntamente com referência bibliográfica utilizada para determinação do parâmetro máximo;

b. Cromatogramas do(s) IFA(s) isolado(s), do placebo e do produto de cada uma das condições de degradação que resultaram em uma porcentagem adequada ou, se não foi possível obter degradação em alguma(s) condição(ões), da amostra que foi exposta aos parâmetros máximos utilizados. No caso das associações em dose fixa, deverão ser apresentados os cromatogramas também dos ativos associados e na formulação;

c. Recomenda-se enviar cada cromatograma em duas escalas. Uma que mostre completamente o pico principal (sugere-se uma escala fixada em 125% da altura do maior pico na amostra de referência) e outra que demonstre claramente os picos menores (sugere-se uma escala fixada em 5% da altura da escala anterior);

d. Recomenda-se que os cromatogramas contenham, pelo menos, os dados de tempo de retenção, área, resolução, eficiência da coluna (n° de pratos teóricos) e assimetria para cada pico, além dos dados de pureza de pico do(s) IFA(s);

e. Dados de pureza e limite (treshold) para o(s) pico(s) relativo(s) ao(s) IFA(s) nos cromatogramas de todas as condições do produto;

f. Tabela comparando a porcentagem de degradação do(s) IFA(s) com a porcentagem de aumento de impurezas;

g. Discussão sobre o balanço de massas;

h. Discussão dos resultados do estudo, com proposição de mecanismos de degradação, se for possível.

3. Conclusão, contendo:

- a. Perfil de degradação “potencial”;
- b. Discussão sobre o impacto das condições de produção no resultado do perfil de degradação;
- c. Discussão sobre os fatores de armazenamento que podem interferir na estabilidade do produto.

4.2 Praziquantel

O praziquantel (PZQ) é um derivado da pirazinoisoquinolina, desenvolvido depois que se descobriu que esta classe de compostos apresentava atividade anti-helmíntica, em 1972. Utilizado principalmente para tratar a esquistossomose e cisticercose, mas também indicado para tratar infecções por outros trematódeos e cestódeos (Brunton, 2012).

4.2.1 Nomenclatura

- IUPAC: (RS)-2-Cyclohexylcarbonyl-2,3,4,6,7,11b-hexahydro-1H-pyrazino[2,1-a]isochinolin-4-ona
- WHO: 2-(Cyclohexylcarbonyl)-1,2,3,6,7,11b-hexahydro-4H-pyrazino[2,1-a]isoquinolin-4-one
- USAN: 4H-Pyrazino[2,1-a]isoquinolin-4-one,2-(cyclohexylcarbonyl)-1,2,3,6,7,11b-hexahydro

4.2.2 Dados físico-químicos da molécula

A fórmula estrutural do PZQ e seus grupos funcionais encontram-se ilustrados na Figura 5.

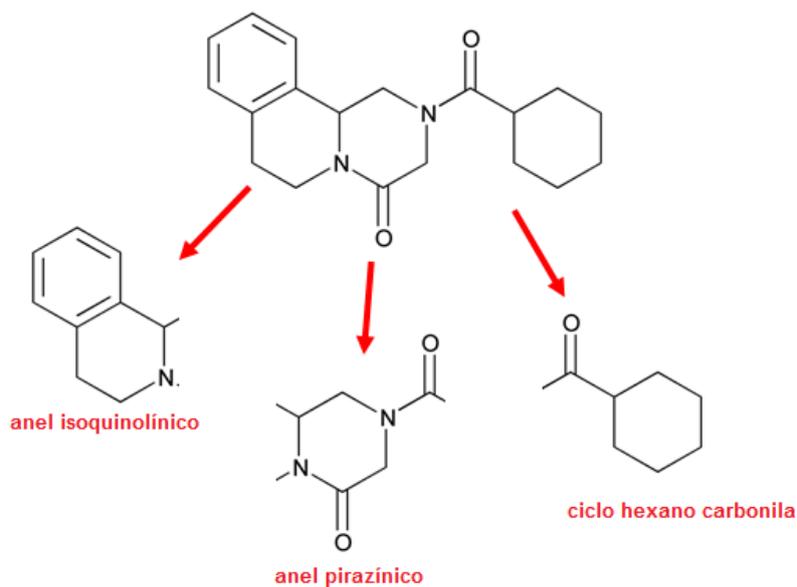


Figura 5. Fórmula Estrutural do Praziquantel

A Farmacopeia Brasileira 5ª edição (FB, 2010) e o NCBI (2017) informam alguns dados da molécula, conforme demonstrado na Tabela 3. O conhecimento dessas propriedades é fundamental para todo trabalho com a substância.

Tabela 3. Propriedades físicas do Praziquantel

Ponto fusão	136-142° C
Fórmula molecular:	C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₂
Massa molar:	312,413 g/mol
Solubilidade:	Muito pouco solúvel em água, facilmente solúvel em etanol (96%) e diclorometano.
Aspecto	Pó cristalino branco ou quase branco. Apresenta polimorfismo
LogP	2,5
pKa	19,38
pKa	-0,22

Praziquantel contém um carbono quiral com duas formas enantioméricas, as quais estão demonstradas na Figura 6.

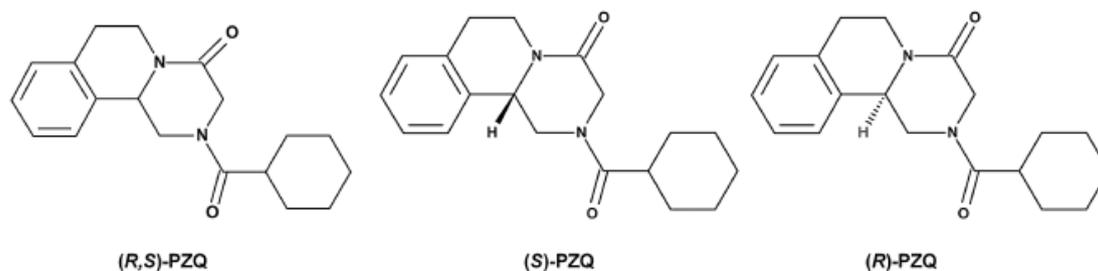


Figura 6. Formas enantioméricas de Praziquantel (PZQ)
(Extraído de Havlíková et al., 2016)

Um estudo de Sun e colaboradores (2016) demonstra que o *R*-PZQ tem baixa toxicidade, enquanto o *S*-PZQ é considerado isômero indesejável na mistura racêmica. Para garantia da eficácia terapêutica, recomenda-se utilizar o *R*-PZQ.

4.2.3 Possíveis vias de degradação da molécula

Como pode ser visto na Figura 5, um dos grupos funcionais presente na molécula do PZQ é o grupamento amida num anel pirazínico. Este grupo, em geral, é mais suscetível a hidrólise básica do que ácida, podendo originar produtos de degradação contendo o grupo funcional ácido carboxílico e aminas. Como exemplo, o mecanismo de hidrólise da ivermectina está ilustrado na Figura 7 (Li, 2012).

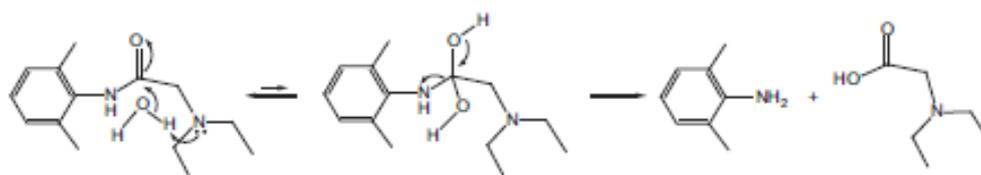


Figura 7. Mecanismo de hidrólise da ivermectina
(Extraído de Li, 2012)

O nitrogênio presente no anel isoquinolínico pode sofrer oxidação radicalar espontânea ou catalisada por íons metálicos, conforme mecanismo ilustrado com o IFA clopidogrel na Figura 8 (Li, 2012).

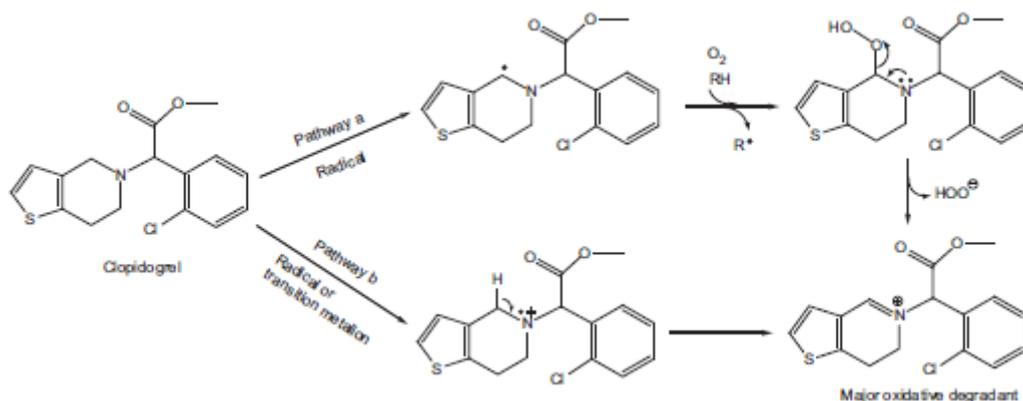


Figura 8. Mecanismo de degradação oxidativa do clopidogrel
(Extraído de Li, 2012)

O mesmo nitrogênio também pode ser susceptível à N-oxidação via S_N2 na presença de peróxido de hidrogênio, conforme explicado anteriormente, sendo que esta reação pode ser inibida pela redução do pH do meio. No caso de formulações, a presença de ácido cítrico cumpriria com o papel de antioxidante (Li, 2012).

Apesar de serem estáveis, os N-óxidos formados podem sofrer decomposição, formando produtos de degradação secundários e terciários. Um dos mecanismos pelos quais isto pode ocorrer é por desalquilação auto oxidativa mediante radical livre, apesar de ser raro e complexo. Outro mecanismo, passível em termodegradações com temperaturas muito altas ou análise da molécula por LC-MS, é a desoxigenação do N-óxido ou eliminação do mesmo pela reação de Cope, conforme Figura 9 (Li, 2012).

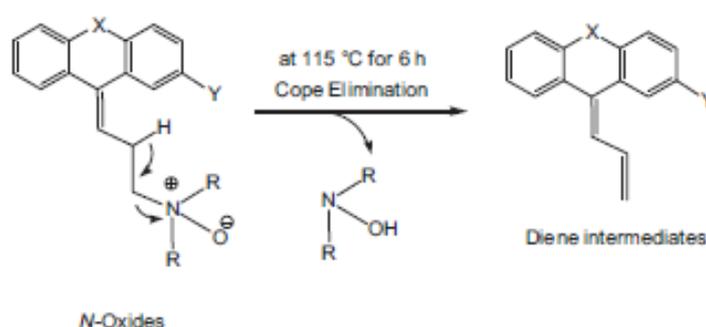


Figura 9. Mecanismo de decomposição de um N-óxido por eliminação de Cope
(Extraído de Li, 2012)

4.2.4 Características farmacológicas

O fármaco provoca uma alteração no fluxo de íons de cálcio na membrana celular do parasita, gerando uma contração muscular espástica, diminuindo a capacidade do verme se contrair e relaxar. Desta forma, ele é expelido pelo organismo hospedeiro, pois não consegue mais se fixar no mesmo. O PZQ afeta mais os vermes adultos do que os jovens (Brunton, 2012).

O praziquantel geralmente é atóxico, porém é muito amargo e o comprimido possui grandes dimensões, o que dificulta a utilização em pacientes pediátricos. Pode ser administrado oralmente em dose única ou múltiplas doses durante o dia. Os principais metabólitos produzidos no organismo humano são derivados hidroxilados do praziquantel (análogos 4-hidroxiciclohexilcarbonil), sendo que 60 a 80% dos metabólitos hidroxilados são eliminados pelos rins, 15 a 37% com a bile e 6% por secreção para os intestinos (Fenwick et al., 2006).

4.2.5 Principais impurezas conhecidas

As monografias compendiais de PZQ, como a Farmacopeias Americana e a Europeia (USP 40, EP 9.0), indicam a existência de algumas impurezas conhecidas do composto, conforme demonstradas abaixo.

- Praziquantel Composto relacionado A

2-Benzoyl-1,2,3,6,7,11b-hexahydro-4H-pyrazino [2,1-a]isoquinolin-4-one

Fórmula molecular: C₁₉H₁₈N₂O₂

Massa molar: 306,37 g/mol

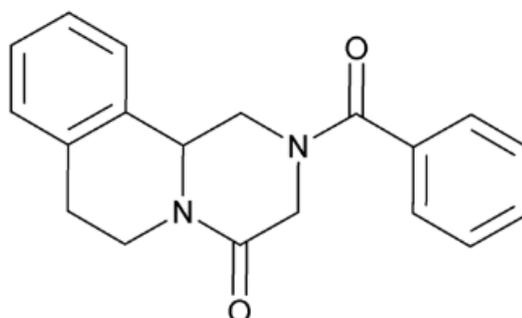


Figura 10. Fórmula estrutural da impureza A de Praziquantel

(Extraído de USP 40)

- Praziquantel Composto Relacionado B

2-(Cyclohexylcarbonyl)-2,3,6,7-tetrahydro-4H-pyrazino [2,1-a]isoquinolin-4-one.

Fórmula molecular: C₁₉H₂₂N₂O₂

Massa molar: 310.40 g/mol

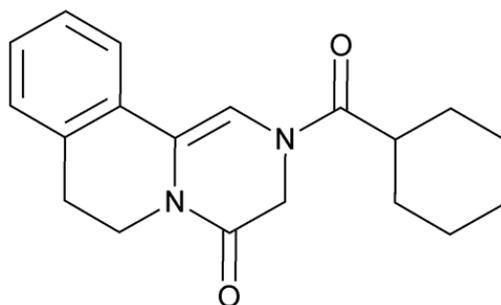


Figura 11. Fórmula estrutural da impureza B de Praziquantel
(Extraído de USP 40)

- Praziquantel Composto Relacionado C:

2-(N-Formylhexahydrohippuroyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-1-one.

Fórmula molecular: C₁₉H₂₂N₂O₄

Massa molar: 342.39 g/mol

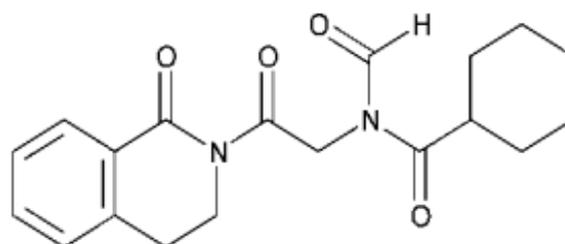


Figura 12. Fórmula estrutural da impureza C de Praziquantel
(Extraído de USP 40)

4.2.6 Praziquantel X RDC 53/2015

A resolução que regulamenta a realização dos estudos de degradação forçada estabelece diferentes escalas e prazos conforme as classes terapêuticas.

O praziquantel, da classe dos anti-helmínticos, está no primeiro escalão das classes terapêuticas e, portanto, a legislação passaria a vigorar para esta classe a partir de 31 de dezembro de 2017. Porém, tendo em vista a consulta pública

CP nº 285/2017 (Brasil, 2017), há proposta de alteração dos prazos relacionados à RDC nº 53/2015 para os produtos que já estão no mercado.

A CP tem por objetivo a alteração dos prazos devido a dois principais problemas associados à RDC 53/2015 (Brasil, 2015a): falta de alinhamento com o ICH e grande demanda de trabalho para a Gerência de Pós-Registros (GEPRE) da Anvisa.

5 METODOLOGIA

Para a realização deste trabalho, foram selecionados artigos, leis vigentes nacionais e internacionais, além de consultas públicas tendo como descritor de busca: produtos de degradação, praziquantel, estudos de degradação forçada, *stress study* e *forced degradation praziquantel*.

O levantamento bibliográfico foi realizado através de busca de informações em base de dados como Capes, Scifinder, Science Direct, Scielo, Google Academic dentre outras, com pesquisa em revistas científicas e nos compêndios oficiais, de modo a levantar dados de degradação para o IFA PZQ e produtos farmacêuticos relacionados, métodos de análise e impurezas descritos.

6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1 Propostas de metodologias preliminares de análise

No levantamento bibliográfico, foram pesquisadas metodologias analíticas a fim de propor a análise das amostras estressadas de Praziquantel IFA e Produto.

A Farmacopeia Americana (USP 40) e Europeia (EP 9.0) trazem monografias destinadas à análise de substâncias relacionadas/teor no IFA racêmico, enquanto a USP 40 traz metodologia de substâncias relacionadas/teor para comprimidos com IFA racêmico (ver Tabela 4).

Hashem e colaboradores (2012; ver **Tabela 4**) conduziram um estudo com o objetivo de desenvolver um método cromatográfico indicativo de estabilidade para determinação quantitativa de PZQ na presença de suas impurezas farmacopeicas, porém o método não foi validado para quantificar as impurezas.

Tabela 4. Estado da arte de métodos indicativos de estabilidade para análise do Praziquantel

Condições instrumentais	USP 40	EP 9	Hashem et al., 2012
Fase móvel	Acetonitrila:água (60:40)	Acetonitrila:água (45:55)	Acetonitrila:0.02M NH ₄ Ac (40:60)
Tempo de corrida	Não informado	40 min; Eluição isocrática	50 min; Eluição isocrática
Sistema cromatográfico (HPLC)	Detector: UV 210 nm Fase estacionária: C18 Coluna: 4,0 x 250 mm; 10 µm: Nucleosil 10 C18 (100 Å tamanho de poro; 15%C) Fab: Macherey-Nagel Fluxo: 1.5 mL/min Volume de injeção: 10 µL	Fase estacionária: C18 Coluna: 4,0 x 250 mm; 5 µm. Fluxo: 1 mL/min. Volume de injeção: 20 µL.	Detector: UV 210 nm Coluna: Caltrex AI, Kromasil Si 100 Å ,5 µm, 4.0 x 125 mm Fluxo:1 mL/min Temperatura da coluna: 30°C Volume de injeção: 10µL
Adequação do Sistema	Avaliado com solução de PZQ padrão e substâncias relacionadas A/B/C Assimetria ≤1.5 Desvio padrão relativo ≤ 1.0%	Avaliado com solução de substâncias relacionadas A/B – Resolução: mínimo 3.0 entre impureza A e praziquantel.	Tempo de retenção do PZQ: 6.15 ±0.03 min. RSD das áreas das injeções: 0.51%. N: 2000 K': 5,5

6.2 Condições para o estudo de degradação

De acordo com o levantamento bibliográfico realizado, foram encontrados diversos artigos sobre degradação forçada de modo geral, mas poucos com degradação específica do Praziquantel, conforme pode ser visto na Tabela 5.

Tabela 5. Estado da arte do estudo de degradação forçada do Praziquantel

Referência / Estudo de Degradação		Suleiman et al., 2004	Hashem H. et al, 2012	Havlíková et al., 2016
Hidrólise ácida	Condição	Não realizada, mas cita artigo cujas condições foram de pH muito baixo, alta temperatura e tempo longo	Conc. final de PZQ 0,5 mg/mL e 0,5 M HCl, sob refluxo por 4 horas	HCl 1% em água e Praziquantel 2.0% em acetonitrila/água 1:1), foram misturados na proporção 1:1 e aquecidos a 70°C por 10 horas em banho de água.
	Conclusão	Não se aplica	A reação produziu 2 PDEgs; a % de degradação foi menor do que a ocorrida na hidrólise alcalina	2 PDEgs representados na Figura 13 .
Hidrólise alcalina	Condição	Praziquantel e hidróxido de sódio (1:1 molar), refluxo por 3 horas a 90°C com agitação magnética contínua. OBS: Os excipientes sacarina sódica e citrato de potássio favorecem a degradação alcalina do PZQ porque tendem a aumentar o pH do meio em presença de umidade.	Conc. final de PZQ 0,5 mg/mL e 0,5 M NaOH sob refluxo por 4h	NaOH 1% em água e praziquantel 2.0% em acetonitrila/água (1:1) foram misturados na proporção 1:1 e aquecidos a 70°C por 10 horas em banho de água.
	Conclusão	Degradação significativa.	Houve formação de um produto majoritário (TR ~ 1,8min) e quase 100% de degradação.	Degradação com formação de 1 PDEg representado na Figura 13 .
Oxidação	Condição	Não realizado	Conc. final de PZQ 0,5 mg/mL e H ₂ O ₂ 15% sob refluxo por 4h Solução de Bissulfito de sódio 1 N foi adicionada para parar a reação	Praziquantel 2.0% em acetonitrila/água (1:1) e solução de peróxido 2% em acetonitrila foram misturados na proporção 1:1 e aquecidos a 70°C por 10 horas em banho de água.
	Conclusão	Não se aplica	Houve formação de um produto majoritário (TR ~ 2,4 min) e quase 100% de degradação.	Não produziu degradação.
Termodegradação seca	Condição	Não realizado	PZQ disperso em placa de Petri e exposto a 60°C por 4 horas.	Não realizado
	Conclusão	Não se aplica	A temperatura produz baixo índice de degradação do praziquantel.	
Termodegradação úmida	Condição	Não realizado	Realizado em solução	Não realizado
	Conclusão	Não se aplica	Não se aplica	

Tabela 5. Estado da arte do estudo de degradação forçada do Praziquantel

Referência / Estudo de Degradação		Suleiman et al., 2004	Hashem H. et al, 2012	Havlíková et al., 2016
Fotodegradação	Condição	PZQ sólido espalhado em placas de Petri seladas expostas por 4 meses à luz solar (foto e termo degradação).	2 mL da amostra (PZQ 1mg/ml em ACN:água 1:1) foi exposta a radiação UV por 4 horas.	A amostra (PZQ 1% em ACN) foi irradiada por 15h com luz de lâmpada Xenon 1.5kW (300–400nm e 400–800nm) usando-se óxido de titânio como catalisador.
	Conclusão	PZQ foi resistente à termodegradação, porém 50% foi degradado devido à ação da radiação UV, formando 3 substâncias não identificadas.	A luz UV produz baixo índice de degradação do praziquantel.	Degradação com formação dos compostos representados na Figura 13 .

Havlíková e colaboradores (2016) propuseram algumas rotas de degradação do PZQ baseados nas substâncias detectadas por UHPLC-MS nas amostras provenientes das reações de degradação (ver Figura 13). Os resultados mostraram que o PZQ sofreu hidrólise ácida formando dois DI's (*degradation intermediates*). O DIP1, resultante da perda do grupo ciclo hexano carbonílico, é conhecido como praziquanamina, que também é o precursor de síntese do PZQ. O DIP5 é o isômero de posição do DIP 4, que é conhecido como impureza C do praziquantel. A hidrólise básica forneceu um produto majoritário, o DIP6, confirmando o mecanismo de hidrólise do grupo amida do anel pirazínico (**Figura 7**). A fotodegradação gerou quatro DI's (DIP1 – DIP4). O DIP3 é conhecido como a impureza B do praziquantel. Nesta condição, DIP2 e DIP4 se transformaram em DIP1. Após 5 horas de exposição, 90% das substâncias foram decompostas e após 9 horas não foi detectado nenhum DI de PZQ.

O Composto Relacionado A não foi formado em nenhuma das reações. De acordo com Novaes e colaboradores (1999), ele pode ser um intermediário de síntese do ativo.

Nos artigos consultados, não houve relatos de estudo de estresse por exposição à íons metálicos e umidade e uma condição geral será proposta conforme Tabela 2.

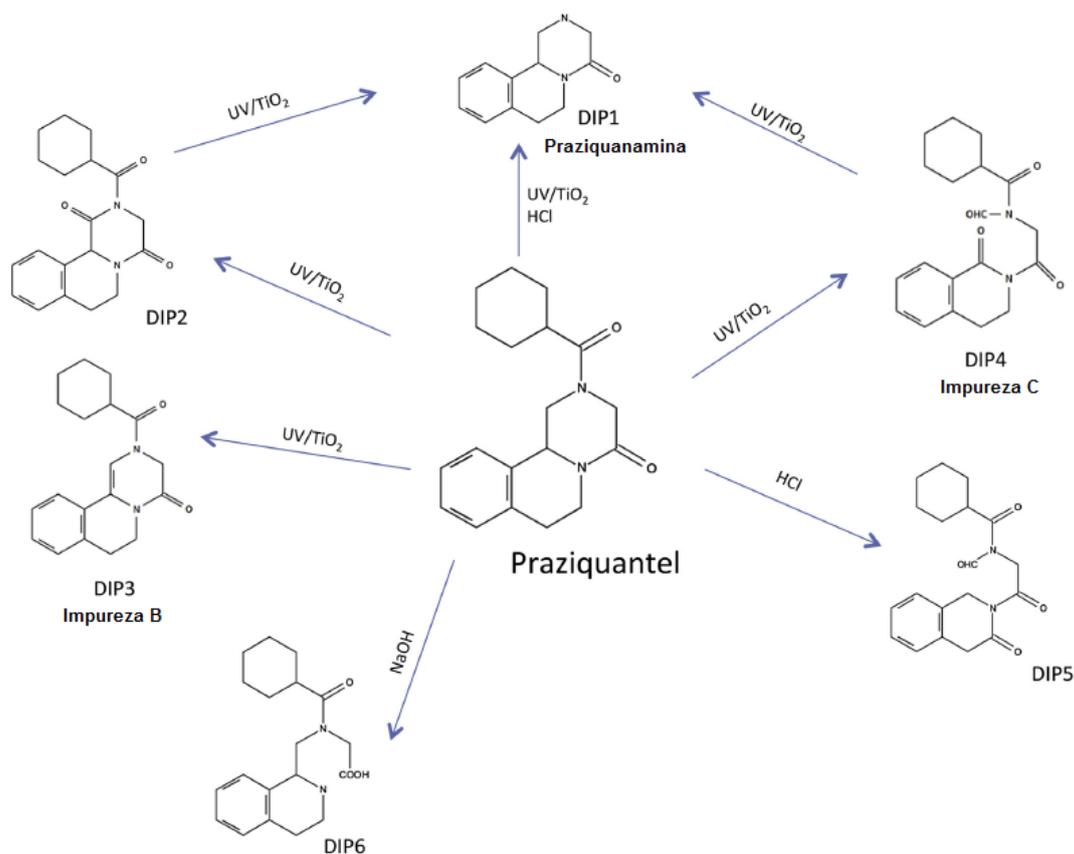


Figura 13. Proposta de rotas de degradação do Praziquantel

(Extraído de Havlíková et al., 2016; DIP = Produto de degradação; UV/TiO₂ = fotodegradação catalisada por óxido de titânio; NaOH = hidrólise alcalina; HCl = hidrólise ácida)

Baseado nos resultados da pesquisa bibliográfica indicados na **Tabela 5**, é proposto que o estudo de degradação forçada seja conduzido conforme descrito na **Tabela 6**.

Propõe-se que a metodologia analítica utilizada seja a descrita na Farmacopeia Europeia, que é semelhante à descrita na USP, porém com uma coluna de dimensões mais usuais nos laboratórios analíticos. A proposta de metodologia de Hashem e colaboradores (2012) não traz muito detalhes e não avalia as substâncias relacionadas.

Tabela 6. Proposta de condições experimentais para o estudo de degradação forçada do Praziquantel IFA e Produto

Material sob teste	Tipo de degradação	Condição
Placebo <input checked="" type="checkbox"/> IFA <input checked="" type="checkbox"/> Produto <input checked="" type="checkbox"/>	Hidrólise ácida	Conc. final de PZQ 0,5 mg/mL e HCl 1M a temperatura ambiente por 5 horas.
	Hidrólise alcalina	Conc. final de PZQ 0,5 mg/ml e NaOH 0,5 M, a temperatura ambiente por 5 horas.
	Íons Metálicos	Conc. final de PZQ 0,5 mg/ml e CuSO ₄ 0,05M a temperatura ambiente por 10 horas ao abrigo da luz. Será adicionado EDTA 100 mM para parar a reação.
	Oxidação	Conc. final de PZQ 0,5 mg/ml e H ₂ O ₂ 15% a temperatura ambiente por 10 horas ao abrigo da luz.
	Termodegradação seca	PZQ será espalhado em placas de Petri seladas e submetidas a 70°C por 15 horas.
	Fotodegradação	PZQ será espalhado em placas de Petri seladas e levadas à câmara de fotoestabilidade a 25° C, por tempo necessário para alcançar a exposição de 3,6 milhões lux/h, 200 watts. Placas envolvidas em papel alumínio serão submetidas às mesmas condições e servirão de controle de ausência de luz.

Tabela 6. Proposta de condições experimentais para o estudo de degradação forçada do Praziquantel IFA e Produto

Material sob teste	Tipo de degradação	Condição
	Termodegradação úmida	PZQ será espalhado em placas de Petri abertas em estufa a 70°C e 90% UR por 15 horas.

O procedimento instrumental deve ser baseado nas legislações vigentes e procedimentos internos do laboratório analítico.

No relatório do estudo, deverá haver uma conclusão sobre o perfil de degradação qualitativo obtido, discussão sobre impacto das condições de produção no resultado do perfil de degradação e discussão sobre os fatores de armazenamento que podem interferir na estabilidade do produto. O balanço de massas e os resultados do estudo deverão ser descritos e discutidos, com proposição de mecanismos de degradação, se for possível.

7 CONCLUSÃO

O estudo de degradação forçada é uma ferramenta para se desenvolver métodos indicativos de estabilidade e, desse modo, permitir que os produtos de degradação e outras impurezas sejam monitoradas nos estudos de estabilidade a fim de assegurar a qualidade do medicamento.

O presente trabalho apresentou uma proposta de condução de estudo de degradação forçada de Praziquantel, a fim de obter produtos de degradação do fármaco e desenvolver um método indicativo de estabilidade para garantir a manutenção da segurança e eficácia do medicamento.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alcântara FC, Rescia VC, Santos MA, Valduga C. Testes de degradação forçada para fármacos e medicamentos. *Revista de Pesquisa e Inovação Farmacêutica*, 5(1): 38-48, 2013.

Alsante K, Ando A, Brown R, Ensing J, Hatajik TD, Kong W, Tsuda Y. The role of degradant profiling in active pharmaceutical ingredients and drug products. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59: 29-37, 2007.

Alsante K, Martin L, Baertschi SW. A stress testing benchmarking study. *Pharmaceutical Technology*, 27(2):60–72, 2003.

Ansel HC, Popovich NG, Allen-Jr LV. *Farmacotécnica: formas farmacêuticas & sistemas de liberação de fármacos*. Porto Alegre: Artmed; 8ª Edição: 775, 2007.

Baertschi SW. *Pharmaceutical Stress Testing*. Indianapolis: Informa Healthcare, 469, 2005.

Boccardi, G, Oxidative Susceptibility Testing. In: Baertschi, SW, *Pharmaceutical Stress Testing in Predicting Drug Degradation*. Indiana, USA. Cap. 7: 221-223, 2008.

Brasil, 2005. Resolução RE nº 01, de 29 de julho de 2005. Guia para a realização de estudos de estabilidade. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Poder Executivo, Brasília, DF, Diário Oficial da União, 01 ago. 2005.

Brasil, 2015a. Resolução RDC nº53/2015. Estabelece parâmetros para a notificação, identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos com substâncias ativas sintéticas e semissintéticas classificados como novos, genéricos e similares. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Poder executivo, Brasília, DF, no Diário Oficial da União nº 233, de 07 de dezembro de 2015, Seção 1, páginas 48 e 49.

Brasil, 2015b. Guia nº 4/2015. Guia para obtenção do perfil de degradação, e identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 04 de dezembro de 2015.

Brasil, 2017a. Consulta pública nº 285/2017. Proposta de Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) que altera os prazos relacionados à Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 53/2015. DOU de 17/01/2017 (nº 12, Seção 1, pág. 37)

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

Brummer H. How to approach a forced degradation study. *LifeScience Technical Bulletin*, 31:1–4, 2011.

Brunton LL. Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica. McGraw-Hill. 12ª edição: 963 – 967, 2012.

Deepti J, Pawan KB. Forced degradation and impurity profiling: Recent trends in analytical perspectives. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 86: 11–35, 2013.

EP 9.0 - European Pharmacopeia. Directorate of Quality of medicines of the Council Europe. Supplement 9.1 to the 9a ed.: 3398 – 3399, 2017.

FB 2010 - Farmacopeia Brasileira 5ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Fundação Oswaldo Cruz, vol. 1 e 2, 2010.

Fenwick A, Keiser J, Utzinger J. Epidemiology, burden and control of schistosomiasis with particular consideration to past and current treatment trends. *Drug Future*, 31: 413–425, 2006.

Florence AT, Attwood D. Princípios físico-químicos em farmácia. São Paulo: Edusp; 3 edição, 2003.

Hashem H, Ibrahimc AE, Elhenaweea M. A rapid stability indicating LC-method for determination of praziquantel in presence of its pharmacopoeial impurities. *Arabian Journal of Chemistry*, 10: S35-S41, 2012.

Havlíková L, Šatínský D, Solich P. Aspects of decontamination of ivermectin and praziquantel from environmental waters using advanced oxidation technology. *Chemosphere*, 144: 21 – 28, 2016.

ICH, 1999. ICH Topic Q6A, "Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances". Londres, October 1999.

ICH, 2003. ICH Topic Q1A (R2), "Stability Testing of new drug substances and products". Londres, February 2003.

ICH, 2006a. ICH Topic Q3B (R2), "Impurities in New Drug Products". Londres, June 2006.

ICH, 2006b. ICH Topic Q3A (R2), "Impurities in New Drug Substances". Londres, October 2006.

Li, M. Organic Chemistry of Drug Degradation. RSC Drug Discovery Series No. 29, 2012.

Lucas TI, Bishara RH, Seevers RH. A Stability program for the distribution of drug products. *Pharmaceutical Technology*, 2:68-73, 2004.

Matthews BR. Regulatory aspects of stability testing in Europe. *Drug Development Industrial Pharmaceutical*, 25(7):831-56, 1999.

Melo SRO. Produtos de degradação: regulamentação sanitária e proposta de monografia para qualificação. Brasília, 2012.

Moriwaki C, Brescansin EG, Hioka N, Maionchi F, Matioli G. Estudo da degradação do fármaco Nabumetona por fotólise direta. *Acta Scientiarum*, 23(3):651-654, 2001.

NCBI, 2017. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database;CID=4891. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4891>. Acesso em 12/07/2017.

Novaes MRC, Souza JP, Araújo HC. Síntese do anti-helmíntico praziquantel, a partir da glicina. *Química Nova*, 22(1): 5-10, 1999.

Ngwa G. Forced degradation as an integral part of HPLC stability-indicating method development. *Drug Delivery Technology*, 10(5): 56-59, 2010.

OMS, 2017. Disponível em: <http://www.who.int/schistosomiasis/disease/en/>. Acesso em 23/06/2017.

Reynolds DW, Facchine KL, Mullaney FJ, Alsante KM, Hatajik TD, Michel MG. Available guidance and best practices for conducting forced degradation studies. *Pharmaceutical Technology*, 26(2):48-56, 2002.

Sehrawat R, Maithani M, Singh R. Regulatory aspects in development of stability-indicating methods: a review. *Chromatographia*, v.72, p.1-6, 2010.

Silva KER, Alves LDS, Soares MFR, Passos RCS, Faria AR, Rolim Neto PJ. Modelos de avaliação da estabilidade de fármacos e medicamentos para a indústria farmacêutica. *Revista de Ciência Farmacêutica Básica e Aplicada*. 20(2): 129-135, 2009.

Singh S, Bakshi M. Guidance on conduct of stress tests to determine inherent stability of drugs. *Pharmaceutical Technology*, 24:1-14, 2000.

Stulzer HK, Silva MA. Estudo de estabilidade de grânulos revestidos e comprimidos contendo Captopril. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, 25(4):497-504, 2006.

Suleiman MI, Elfatih IA, Ibrahim KEE, Ahmed MB, Saeed AEM, Hamid AEME. Photothermal stability of praziquantel. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 12: 157–162, 2004.

Sun Q, Mao RF, Wang DL, Hu CY, Zheng Y, Sun DQ. The cytotoxicity study of praziquantel enantiomers. *Drug Design, Development and Therapy*. 10: 2061–2068, 2016.

Taborianski AM. Validação de métodos para análise e estudos de estabilidade de antirretrovirais em preparações farmacêuticas [Dissertação] São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo; 2003

USP 40 - United States Pharmacopeia, Rockville: United States Pharmacopeial Convention. 40th ed.: 5803 - 5804, 2017.

Vehabovic M, Hadzovic S, Stambolic F, Hadzic A, Vranjes E, Haracic E. Stability of ranitidine in injectable solutions. *International Journal Pharmaceutical*. 256:109–15, 2003.