



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS



**ESTUDO DE PRÉ-FORMULAÇÃO DA IVERMECTINA:
CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DO FÁRMACO**

Flávia Cássia Maria dos Santos

RECIFE

2013



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE



DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ESTUDO DE PRÉ-FORMULAÇÃO DA IVERMECTINA: CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DO FÁRMACO

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Orientador: Prof. Dr^a. Miracy Muniz Albuquerque

Flávia Cássia Maria dos Santos

RECIFE

2013

Catálogo na Publicação
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

S237 Santos, Flávia Cássia Maria dos.
Estudo de pré-formulação da ivermectina: caracterização e estabilidade do fármaco / Flávia Cássia Maria dos Santos. – Recife: O autor, 2013.
101 f.: il.; tab.; gráf.; 30 cm.

Orientadora: Miracy Muniz de Albuquerque.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2013.
Inclui bibliografia, apêndices e anexos.

1. Ivermectina. 2. . 3. Estabilidade de medicamentos. 4. Filariose. I. Lima, Maria do Carmo Alves de (Orientadora). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2013-026)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**ESTUDO DE PRÉ-FORMULAÇÃO DA IVERMECTINA:
CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DO FÁRMACO**

BANCA EXAMINADORA:

Membros Externos Titulares

Prof. Dr. Mônica Felts de La Roca Soares (Primeira Examinadora Externa)

Prof. Dr. Danilo César Galindo Bedor (Segundo Examinador Externo)

Membro Interno Titular

Prof. Dr. Miracy Muniz Albuquerque - Universidade Federal de Pernambuco

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Dr. Sílvio Romero Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Francisco de Sousa Ramos

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Prof. Nicodemos Teles de Pontes Filho

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Prof. Dra. Vânia Pinheiro Ramos

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Prof^ª. Dr^ª. Nereide Stela Santos Magalhães

**VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Prof^ª. Dr^ª. Ana Cristina Lima Leite

Ora, àquele que é poderoso para fazer tudo muito mais abundantemente além daquilo que pedimos ou pensamos, segundo o poder que em nós opera. A esse glória na igreja, por Jesus Cristo, em todas as gerações, para todo o sempre. Amém.
Efésios 3; 20- 21

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por ter sempre iluminado o caminho que percorri, guiando meus passos; por ter me dado saúde para me dedicar ao trabalho; por ter me dado uma família e amigos que me apoiaram; por ter me confortado nos momentos de angústia; por ter me amado, incondicionalmente.

Aos meus pais, **Gerusa Maria dos Santos e José Vicente dos Santos**, por todo o apoio e amor, em todos os momentos da minha vida. Por estarem sempre presentes e preocupados comigo e com o meu futuro, por me amarem incondicionalmente pelo exemplo de carinho, amor, educação e honestidade, sempre me ajudando para que me torne cada dia uma pessoa melhor, profissional e pessoalmente.

Ao meu esposo, **Adiel Bezerra**, pelo companheirismo, e, principalmente, pela paciência nos momentos difíceis, por me aceitar do jeito que sou. Por ter colaborado durante esse trabalho. Obrigada por fazer parte da minha vida!

Aos meus irmãos, **Ana Claudia e Vagner Vicente** por todo apoio nos momentos difíceis pelas alegrias vividas por fazerem parte da minha vida sem vocês minha vida não seria tão feliz.

Aos meus Sobrinhos, **Heloísa, Alice, Vinícius e Victor** maravilhosos um presente de Deus nas nossas vidas que nos momentos difíceis dizem a mais doce frase “tia Flávia te amo” Amo vocês!

A minha orientadora, **Prof. Dr^a. Miracy Muniz Albuquerque**, pela oportunidade de ter realizado esse trabalho, pela confiança, pelos ensinamentos, pelo apoio e amizade. Por ter me proporcionado o conhecimento acadêmico e científico ao longo dessa pesquisa, e participado do meu crescimento profissional e pessoal.

Ao meu Co-orientador, **Prof.Dr. José Lamartine Soares Sobrinho**, Por todo seu empenho no desenvolvimento deste trabalho.

A **Prof. Dr^a. Larissa Araújo Rolim**, Por toda contribuição no desenvolvimento desta Pesquisa, por todo conhecimento passado.

Ao amigo, **Doutorando Carlos Eduardo Miranda** por sua colaboração e por ter me ensinado tanto a parte técnica como a analítica, do manuseio do equipamento ate a interpretação dos dados sem pedir nada em troca nunca hesitou em me ensinar pacientemente a cada etapa deste trabalho.

As minhas amigas do NCQMC **Ana Cristina Regis** e **Rosário Britto** pela amizade construída ao longo deste trabalho e ensinamentos.

Aos meus Amigos **Thayse Maria da silva, Adriano Nunes Cunha e Clayton Azevedo** por toda colaboração e amizade.

Agradeço aos Coordenadores do **NCQMC** e **LTM** por terem contribuído para realização deste trabalho.

E a **todos** aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CETENE	Centro Tecnológico do Nordeste
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CPMP	<i>Committee for Proprietary Medicinal Products</i>
DAD	Detector de arranjo diodo
DEC	Dietilcarbamazina
DRX	Difração de raios X
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DTA	Análise Térmica Diferencial
DTG	Termogravimétrica Derivativa
EUA	Estados Unidos da América
EMg	Estearato de Magnésio
FL	Filariose Linfática
IC	Índice de Carr
ICH	<i>International Conference on Harmonization</i>
IH	Índice de Hausner
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
IVC	Ivermectina
IV-TF	Infravermelho com Transformada de Fourier
IT-TOF	<i>Ion trap-time of flight</i>
LC-MS	Cromatografia líquida acoplada a espectro de massas
MB	Misturas Binárias
MERCOSUL	Mercado Comum do Sul
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
OMS	Organização Mundial de Saúde
PDs	Produtos de degradação
TG	Termogravimetria

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	graus Celsius
Nm	Nanômetro
M	Molar
Kg	Quilogramas
KV	Quilovolts
µg	Microgramas
ΔH	Varição de entalpia
µm	Micrometro
J.g ⁻¹	Joule por gramas
ΔE	Varição de energia
mM	Milimolar
d _{ap}	Densidade Aparente
d _{cp}	Densidade Compactada
G	Gramas
MG	Miligrama
S _{BET}	Área Superficial modelo Brunauer, Emmet e Teller
NaOH	Hidróxido de Sódio
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
HCl	ácido clorídrico
Å	Angstrom

m^2/g	metro quadrado por grama
$2\theta/s$	dois teta por segundo
cm^{-1}	centímetro menos 1
$>$	maior que
$<$	menor que
L	Litro
A	fator de frequência
n	Ordem da reação
T	Temperatura
$f(\alpha)$	Fração decomposta de um sólido em função da temperatura
KJ/mol	Quilojoules por mol
W/m^2	Watts por metro quadrado
m/z	Razão massa carga

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1- Estrutura Química da Ivermectina (European,2007) 25

CAPÍTULO II: Artigo 1 – ESTUDO DE PRÉ-FORMULAÇÃO DO FÁRMACO IVERMECTINA UTILIZADO COMO ANTIPARASITÁRIO DE AMPLO ESPECTRO

Figura. 1 - Fluxograma do estudo de compatibilidade fármaco-excipiente. 54

Figura. 2 - Estrutura química da IVC. 55

Figura. 3 - Espectro de MS (a) e de absorção no infravermelho da IVC (b)..... 56

Figura. 4 - Difratoograma e eletromicrografia das partículas cristalinas de IVC..... 60

Figura. 5 - Distribuição de frequência do tamanho das partículas de IVC..... 60

Figura. 6 - Curvas de DSC para definição da razão de aquecimento da IVC. 62

Figura. 7 - Curva TG obtida a 10°C.min-1 sob atmosfera de N2 com fluxo de 50 mL.min-1. 63

Figura. 8 - Curvas TG de IVC sem pré-aquecimento (sample 1) e com pré-aquecimento a 157°C (sample 2) em atmosfera de N2 a 50mL.min-1..... 64

Figura. 9 - Espectro de IV-TF de amostras de IVC sem pré-aquecimento (sample 1) e com pré-aquecimento a 157°C (sample 2). 65

Figura. 10 - Curvas TG e o gráfico de Ozawa da IVC obtido em cinco razões de aquecimento sob atmosfera dinâmica de nitrogênio no método não-isotérmico. 66

Figura. 11 - Espectro de IV-TF da IVC, Tabletose®, Starch®, mistura binária IVC/ Tabletose®, mistura binária IVC/ Starch®. 69

CAPÍTULO III: Artigo 2 – DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO INDICATIVO DE ESTABILIDADE PARA A IVERMECTINA POR CLAE-DAD

Figura - 1: Cromatograma da Linearidade da IVC Matéria Prima..... 79

Figura - 2: Cromatograma obtido com método descrito em compêndios oficiais..... 81

Figura - 3: Cromatograma representativo da IVC matéria prima Degradada. 82

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Tabela 1 - Impacto do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) no desenvolvimento de formas farmacêuticas.	29
Tabela 2 - Propriedades físico-químicas afetadas pelo polimorfismo.....	32
Tabela 3 - Parâmetros avaliados na estabilidade de fármacos e medicamentos.....	36
Tabela 4 - Métodos analíticos aplicados ao fármaco ivermectina.	42
Tabela 5 - Características de validação de acordo com os tipos de procedimento analítico, segundo as recomendações do ICH.	44

CAPÍTULO II: Artigo 1 – ESTUDO DE PRÉ-FORMULAÇÃO DO FÁRMACO IVERMECTINA UTILIZADO COMO ANTIPARASITÁRIO DE AMPLO ESPECTRO

Tabela. 1- Resultado do estudo de solubilidade semi-quantitativo da IVC.....	57
Tabela. 2 - Determinação da solubilidade quali-quantitativa em sistemas aquosos.....	58
Tabela. 3 - Resultados das propriedades de compactação da amostra analisada	61
Tabela. 4 - Resultados das propriedades de compactação da amostra analisada.	67
Tabela. 5 - Dados termoanalíticos da IVC e das MBs com excipientes.....	68

CAPÍTULO III: Artigo 2 – DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO INDICATIVO DE ESTABILIDADE PARA A IVERMECTINA POR CLAE-DAD

Tabela - 1: Resultado das degradações da IVC.	80
Tabela - 2: Percentual de IVC fotodegrada versus tempo de exposição.	81

RESUMO

A ivermectina (IVC) é um fármaco utilizado com objetivo de interromper a transmissão do parasito e erradicar as microfilárias. A filariose é uma doença endêmica, considerada potencialmente erradicável pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Apesar disso, o índice de resistência ao tratamento individual é grande, sendo recomendado um tratamento em massa da população em áreas endêmicas com doses individuais de IVC. Na terapia em massa, a ingestão prolongada deste fármaco pode levar ao seu acúmulo no organismo, podendo esse sofrer uma série de reações inesperadas em condições orgânicas como oxidações, hidrólises ácidas, básicas ou neutras, podendo ainda em condições de armazenamento e estocagem, sofrer termo e fotodegradação. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi realizar o estudo de caracterização e estudo de degradação da IVC. Apesar do seu uso consagrado no tratamento da filariose linfática, pouco se sabe a respeito de sua estabilidade. Inicialmente obtiveram-se vários perfis analíticos como: perfis térmicos, difratométricos, morfológicos e reológicos, através de técnicas específicas e o estudo de degradação. Utilizando as técnicas supracitadas foi possível realizar um estudo de compatibilidade IVC: excipientes (utilizados em formas farmacêuticas sólidas), que demonstrou uma incompatibilidade da IVC com lactose e amido. Com base nesses resultados o desenvolvimento de novas formas farmacêuticas, bem como o controle de qualidade das formas já existentes no mercado pode ser realizado de forma mais racional, com um melhor entendimento das características da IVC. O estudo de degradação foi realizado pela aceleração das reações de degradação do fármaco IVC utilizando condições de estresse hidrolítico básico (NaOH 1M) ácido (HCl 1M), neutro (H₂O), oxidativo (H₂O₂ 3%) e fotolítico (com associação de lâmpadas ultravioleta e branca fria) as quais foram avaliadas por CLAE-DAD Não foi possível calcular as cinéticas de degradação da IVC sob condições hidrolíticas, devido ao período de tempo avaliado, mas, como houve decaimento expressivo da IVC quando submetida a fotodegradação pode-se calcular a cinética de primeira ordem para esta condição. Comprimidos de IVC e uma formulação líquida (solução oral manipulada) foram submetidos a estudos de estabilidade acelerada por 3 meses e apresentaram decaimento significativo com o aparecimento de PDs, sem a possibilidade de quantificação relativa devido a co-eluição dos PDs da IVC no método desenvolvido.

PALAVRAS CHAVE: Ivermectina, Propriedades Físico-químicas, Estudo de Estabilidade Forçada.

ABSTRACT

Ivermectina (IVC) is a drug used in order to interrupt transmission of the parasite and eradicate the microfilariae. Filariasis is endemic, ineradicable potentially considered by the World Health Organization (WHO). Nevertheless, the rate of resistance to individual treatment is great, being recommended mass treatment of the population in endemic areas with single doses of IVC. In mass therapy, prolonged intake of this drug can lead to its accumulation in the body, this can undergo a series of unexpected reactions in organic conditions such as oxidation, acid hydrolysis, basic or neutral, and can still storage conditions and storage, term suffering and photobleaching. Given the above, the aim of this work was the study of characterization and degradation study of CVI. Despite its established use in the treatment of lymphatic filariasis, little is known about their stability. Initially we obtained several analytical profiles as thermal profiles, difratométricos, morphological and rheological through specific techniques and degradation study. Using the techniques described above it was possible to realize a compatibility study CVI: excipients (used in solid dosage forms) that showed a mismatch of CVI with lactose and starch. Based on these results the development of novel dosage forms, as well as quality control of the forms already on the market can be made more rationally, with a better understanding of the characteristics of IVC. O degradation study was performed by the acceleration of the reactions CVI degradation of the drug using basic hydrolytic conditions of stress (1M NaOH) acid (1M HCl), neutral (H₂O), oxidative (3% H₂O₂) and photolytic (with associated UV lamps and cool white) which were evaluated by HPLC -DAD was not possible to calculate the degradation kinetics of CVI under hydrolytic conditions due to the time period measured, but since there was a significant decay of CVI when subjected to photodegradation can calculate the first-order kinetics for this condition. Tablets CVI and a liquid formulation (oral solution manipulated) were subjected to accelerated stability studies for 3 months and showed significant decay with the appearance of PDs without the possibility of relative quantification due to coelution of PDs in the CVI method developed .

KEY-WORDS: Ivermectin, Physico-chemical Stability Study Forced.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVOS	20
2.1.	Objetivo Geral	20
2.2.	Objetivos Específicos	20
	CAPÍTULO I	21
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
3.1.	Filariose Linfática.....	22
3.2.	Ivermectina	24
3.3.	Caracterização de fármacos	26
3.4.	Solubilidade	27
3.5.	Polimorfismo	31
3.6.	Análise Térmica.....	33
3.7.	Reologia e granulometria.....	33
3.8.	Estabilidade de fármacos e medicamentos	34
3.8.1.	Estabilidade	36
3.8.2.	Testes de estabilidade	37
3.8.3.	Estudos de degradação.....	39
3.8.4.	Cinética de reação.....	40
3.9.	Métodos existentes na Literatura para doseamento da Ivermectina	41
3.9.1.	Métodos analíticos para quantificação de ivermectina.....	41

3.10.	Validação de Métodos Analíticos.....	43
4	CAPÍTULO II: Artigo 1 – ESTUDO DE PRÉ-FORMULAÇÃO DO FÁRMACO IVERMECTINA UTILIZADO COMO ANTIPARASITÁRIO DE AMPLO ESPECTRO	
	47	
5	CAPÍTULO III: Artigo 2 – ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DO ANTIPARASITÁRIO IVERMECTINA EM SOLUÇÃO POR CLAE-DAD.....	73
6	CONCLUSÃO.....	86
7	PERSPECTIVAS.....	88

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A filariose linfática (FL) é uma doença parasitária crônica, endêmica das regiões tropicais da Ásia, África, América Central e do Sul, causada pelo verme nematóide *Wuchereria bancrofti*, sendo também conhecida como bancroftose. Sua transmissão se dá pela picada da fêmea do mosquito *Culex quinquefasciatus* infectado com larvas do parasito. Os vermes adultos presentes se desenvolvem e causam lesões nos vasos linfáticos, e serão responsáveis pelo quadro clínico que se apresentará (DREYER *et al* 2005). A Organização Mundial da Saúde considera a filariose linfática como sendo potencialmente erradicável e planeja eliminá-la por meio de programas de administração em massa de medicamentos. (OMS, 2012)

A administração em massa da ivermectina (IVC) representa um ponto crítico no tratamento da filariose uma vez que a sua ingestão prolongada pode levar ao acúmulo no organismo, e sofrer uma série de reações inesperadas em condições orgânicas como oxidações, hidrólises. Tais reações e a fotodegradação podem ocorrer *in vitro* em condições especiais de armazenamento e estocagem. Estas possíveis reações podem ser mimetizadas pelo “estudo de estresse” que é definido como um teste de estabilidade para fármacos e medicamentos sob condições extremas. São testes importantes, pois podemos identificar e quantificar o fármaco e seus produtos de degradação, as quais serão úteis para o desenvolvimento do método indicativo de estabilidade. Esse método, posteriormente, poderá ser utilizado para o doseamento de formas farmacêuticas submetidas a testes de estabilidade acelerada e de acompanhamento, garantindo a segurança e eficácia do medicamento. (CHAVES, 2012).

Alguns estudos, como o realizado por (Singh & Bakshi 2000), propõem um sistema para classificação de fármacos tomando como base o comportamento da estabilidade do mesmo diante de variações nas condições submetidas, o qual servirá para desenvolvimento das metodologias utilizadas na execução deste projeto. Existem na literatura métodos para quantificação de IVC e suas impurezas (USP, Britânica). Neste sentido, foi realizado, a partir de diferentes técnicas, a caracterização físico-química do IVC, o estudo de degradação forçada do fármaco. Com os resultados dos estudos realizados e das características do fármaco, a qual forneceu informações de relevância técnica-científica e social, constituindo dessa forma um avanço com controle de qualidade da ivermectina.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Realizar a caracterização e estudo de Estabilidade da ivermectina (IVC), no estado sólido e em solução, em condições forçadas, contribuir com controle de qualidade da IVC.

2.2. Objetivos Específicos

- ✓ Caracterização físico-química da matéria prima, IVC;
- ✓ Realização de estudo de estabilidade e pré-formulação da IVC com excipientes por diferentes técnicas analíticas;
- ✓ Realização de estudo de degradação da IVC em solução sob condições ácida, básica e neutra, oxidativas, termolíticas e fotolíticas;

CAPÍTULO I

REVISÃO

BIBLIOGRÁFICA

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Filariose Linfática

A Filariose Linfática (FL) também conhecida como bancroftose é considerada um importante agravo de saúde pública no mundo e uma das principais causas de deformidade e incapacidade física que podem levar à exclusão e estigma sociais. É uma doença parasitária que atinge o sistema linfático, sendo a principal causa de elefantíase e hidrocele, responsável por importantes perdas econômicas em países de Clima tropical e subtropical, em continentes como Ásia, África, América central e do Sul com 120 milhões de indivíduos infectados. É, no entanto, uma das seis doenças potencialmente erradicáveis no mundo a (OMS, 2012; BONFIM, 2002; ROCHA, 2004; BOCKARIE, ET al. 2009; DREYER, MATTOS & DREYER, 2008)

Em 1993, a Força tarefa para erradicação de doenças elegeu a FL como uma das seis doenças potencialmente elimináveis. Em maio de 1997, a Assembléia Mundial de Saúde consolidou essa resolução, anunciando a eliminação global da filariose como um problema de saúde pública (WHO, 1997). Sendo neste mesmo ano estabelecido pela OMS que o controle da FL seria baseado em dois grandes pilares: a interrupção da transmissão, (através do tratamento em massa das populações endêmicas) e do controle da morbidade. (BOCKARIE, et al., 2009; DREYER, DREYER, NORÕES, 2002; OTTESEN, et al., 2008; RAMAIAH, VANAMAIL, PANI, 2007).

A FL é causada pelo verme nematóide *Wuchereria bancrofti*, sendo suas larvas transmitidas aos seres humanos através da picada de mosquitos da espécie *Culex quiquefasciatus* infectados por larvas, provenientes do sangue de uma pessoa infectada. Uma vez no homem, as larvas infectantes migram pelo organismo através dos vasos linfáticos, desenvolvendo-se em vermes adultos, até atingirem seus locais de permanência definitiva, onde reproduzem e geram novas microfilárias. O grande número de Microfilárias na corrente sanguínea provoca danos severos e inchaços no corpo, causando o linfoedema, também conhecido como elefantíase (LIMA, 2006; RIBEIRO, 2011; SILVA, 2010).

Estas larvas circulam no sangue periférico durante o período noturno ou diurno segundo sua determinação genética. (LIMA, 2006; RIBEIRO, 2011; SILVA, 2010). Durante sua circulação no sangue periférico, as microfilárias são sugadas pelo hospedeiro intermediário (mosquito vetor de várias espécies) e sofrem maturação, podendo posteriormente ser inoculadas em outro hospedeiro definitivo (o homem) reiniciando assim o ciclo (MELO et al, 2004). O número de microfilárias presentes no sangue periférico (densidade microfilarêmica) varia muito entre as regiões, e entre os indivíduos, dependendo primariamente do nível de transmissibilidade da infecção, além de outros fatores. Para que uma pessoa se torne portadora da filariose é necessário que ela seja exposta intensa e prolongada mente a picadas de mosquitos infectados com larvas no estágio três (L3) (WHO, 2007; DREYER G. MATTOS D. & NOROES 2005; GEARY, 2005)

O vetor até agora identificado como o principal transmissor da doença no Brasil, o *Cores quinquefasciatus*, possui uma grande capacidade de adaptação às áreas urbanas e semi-urbanas que o caracteriza como a espécie entre todas as outras, que tem maior importância epidemiológica (MELROSE et al., 2004). Reproduz-se em águas poluídas e estagnadas, com alto teor de matéria orgânica como: fossas sépticas, canais e canaletas, nos quais são diretamente despejados os dejetos humanos. Portanto a precariedade das condições sanitárias é uma grande aliada para a proliferação do inseto (REGIS et al; 1996; MEDEIROS et al, 2003). Atualmente, no Brasil, a parasitose apresenta distribuição urbana e nitidamente focal, sendo detectada transmissão ativa somente em Recife e cidades de sua região metropolitana, Olinda, Jaboatão dos Guararapes e Paulista. (DREYER et al., 2010)

A região metropolitana do Recife apresenta índices de microfilarêmicos variando de 2% até 15%, em comunidades de baixo nível socioeconômico. A população desses quatro municípios é estimada em 2.600.000 habitantes, considerando-se a população em risco de adquirir a infecção, a residente em áreas de baixo nível socioeconômico sendo 1.600.000 a população da área endêmica de FL e estimados em 30.000 o número de microfilarêmicos. (BRASIL, 2009; LIMA, 2006; SANTOS, 2005)

Belém do Pará (Região Norte) e Maceió (Região Nordeste) são cidades que até recentemente também eram focos ativos no Brasil e, pelos dados atuais, mostram a interrupção da transmissão da parasitose (BRASIL 2009).

A prevalência da infecção aumenta durante a infância e tende a se estabilizar no início da fase adulta e é mais alta entre indivíduos do sexo masculino, na população de 20 a 40 anos de idade. Embora a distribuição da infecção pareça global, aproximadamente um terço dos indivíduos infectados reside na Índia, outro terço na África e o restante se encontram, predominantemente, na região ocidental do Pacífico e no sudeste da Ásia. As Américas representam 0,3% da prevalência global é o país com maior número de casos e o Haiti, seguido pela República Dominicana, pela Guiana Inglesa e pelo Brasil. A maioria dos microfilarêmicos não tem sintomatologia aparente, porém funcionam como fonte de infecção e, do ponto de vista epidemiológico, necessitam de atenção para evitar a dispersão da parasitose (MATTOS & DREYER, 2008; BRASIL, 2009).

O tratamento da FL pode ser individual ou em massa da população, com o objetivo de interromper a transmissão. O tratamento antifilarial está indicado em todos os indivíduos com evidências de infecção ativa (vermes adultos e/ou microfilárias), independentemente de apresentarem ou não qualquer manifestação clínica relacionada direta ou indiretamente à bancrofitose. O fármaco de escolha para o tratamento individual é a dietilcarbamazina (DEC). Para o tratamento em massa, a ivermectina na administração anual evidenciou uma redução da prevalência da microfilaremia na população humana, assim como o índice de infectividade dos mosquitos vetores (DREYER, DREYER, NORÕES, 2002; MERLOSE, 2004).

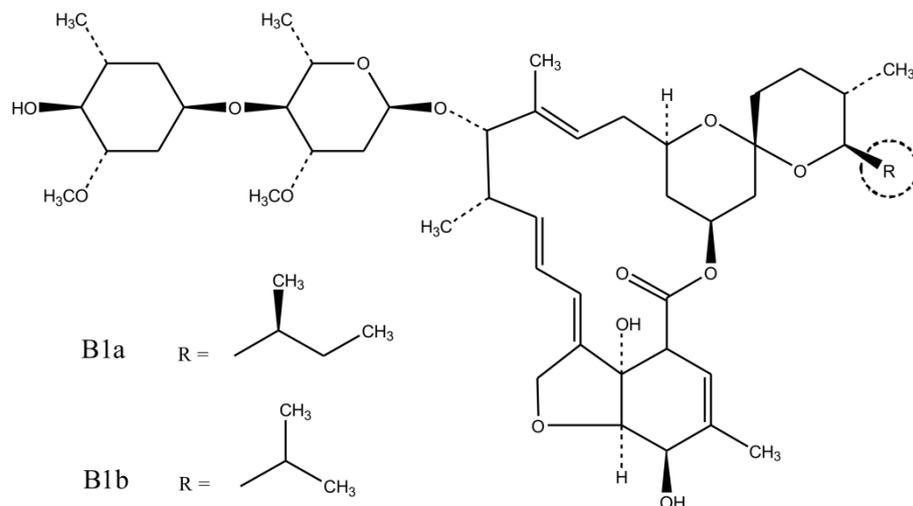
O desenvolvimento de metodologias de diagnóstico individual e de tratamento em massa tem proporcionado a Organização Mundial de Saúde (OMS) executar o programa de erradicação global da FL (BOCKARIE, et al., 2009; DREYER, DREYER, NORÕES, 2002; OTTESEN, et al. 2008; RAMAIAH, VANAMAIL, PANI, 2007).

3.2. Ivermectina

As avermectinas são produtos obtidos por fermentação de fungos do gênero *Streptomyces* e apresentam em sua estrutura química uma lactona macrocíclica ligada a dois açúcares (BARRAGRY, 1987). Dentro desse grupo de avermectinas está a ivermectina, comercializada pela primeira vez em 1981 pela empresa Merck Sharp and Dohme como um

agente antiparasitário. Ela consiste em uma mistura de duas avermectinas, sendo cerca de 80% ivermectina B1_a e 20% de ivermectina B1_b, fisicamente apresentam-se como um fármaco pouco solúvel de estrutura cristalina (classe II na classificação biofarmacêutica), todos estes pontos críticos devem ser trabalhados na obtenção tecnológica de formas farmacêuticas. Figura 1 (GONZALEZ CANGA *et al.*, 2009).

Figura 1- Estrutura Química da Ivermectina (European, 2007)



R = CH₂CH₃ Ivermectina B1_a(5-O-dimetil-22,23-di-hidroavermectina A 1_a)

R = CH₃ Ivermectina B1_b(5-O-dimetil-25-di(1-metilpropil)-25-(1-metiletil)-22,23-di-hidroavermectina A 1_a)

O mecanismo de ação da ivermectina ocorre pela ativação dos canais de cloro controlados tanto por glutamato quanto pelo ácido gama-aminobutírico (GABA). A abertura dos canais de cloro permite o influxo de íons cloreto que promovem a paralisia da musculatura e morte do parasita, estes canais estão presentes somente nos invertebrados, o que justifica a atividade apenas nos parasitas (ARENA *et al.*, 1995; GEARY, 2005).

A ivermectina (mistura das avermectinas B1_a e B1_b) é um pó cristalino branco ou quase branco, praticamente insolúvel em água, livremente solúvel em diclorometano e solúvel em etanol. Possuem como fórmulas moleculares C₄₈H₇₄O₁₄ para a ivermectina B1_a e

C47H72O14 para a ivermectina B1b, com pesos moleculares de 875 e 861 g.mol⁻¹, respectivamente (EUROPEAN, 2007).

A ivermectina é um fármaco utilizado na medicina contra parasitoses humanas, e seu emprego tem-se intensificado. Possui atividade farmacológica contra uma série de parasitas que inclui *wuchereria bancrofti*.

A ivermectina é rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal, atingindo uma concentração máxima no sangue cerca 4 horas após a ingestão oral. Sua metabolização é feita pela CYP3A4-hepática em aproximadamente 10 metabólitos, que em sua maioria são derivados hidroxilados e desmetilados. O fármaco e os seus metabólitos têm sua excreção quase exclusivamente feita pelas fezes, e essa excreção se dá de forma quase inalterada. Menos de 1% da dose administrada é eliminada pela urina e menos de 2% no leite materno.

3.3. Caracterização de fármacos

Cada fármaco possui características importantes que precisam ser estudadas, dentre as quais se destacam solubilidade, coeficiente de partição, dissolução intrínseca, forma física de apresentação e estabilidade. A avaliação dessas propriedades pode ser realizada através de diversas técnicas analíticas que, em geral, são especificadas na monografia de cada fármaco disponível em compêndios oficiais. Dentre elas ressalta-se a análise térmica; difração de raios-X; técnicas espectrométricas, microscópicas, cromatográficas, entre outras (HUANG, TONGB, 2005; SOARES-SOBRINHO, et al., 2010b; NERI, et al., 2008). A fim de desenvolver um medicamento robusto, ou seja, com parâmetros de qualidade segurança e eficácia bem definidos e assegurados, a indústria farmacêutica durante o desenvolvimento, deve levar em consideração as propriedades biofarmacêuticas (SAXENA, et al., 2009; YU, 2008).

A farmacotécnica possibilita incluir ou veicular fármacos em uma formulação estável, dando origem a uma forma farmacêutica adequada à via de administração proposta e ao objetivo terapêutico do medicamento. A pré-formulação é a primeira etapa no desenvolvimento racional de formas farmacêuticas e tem como objetivo fornecer o conhecimento necessário para o desenvolvimento racional de formulações e a produção de uma forma farmacêutica estável e efetiva, auxiliando a prevenção de muitos eventos

subsequentes a sua produção (GOPINATH, NAIDU, 2011; LAGRANGE, 2010; MAMEDE et al., 2006).

No desenvolvimento de formulações, é essencial conhecer as características físico-químicas do fármaco isolado ou associado a adjuvantes, o que constitui uma fase de transição entre as etapas químicas e tecnológicas. Nesta fase é possível obter informações sobre a compatibilidade entre princípios ativos e excipientes, sobre a estabilidade do fármaco e da formulação, além da biodisponibilidade a partir da forma farmacêutica, seu prazo de validade, e até mesmo seu processamento industrial (BERTOL, et al, 2010; PERES-FILHO, et al., 2011; SAXENA, et al., 2009; SOARES-SOBRINHO, et al., 2010a).

3.4. Solubilidade

A taxa de solubilidade e dissolução de insumos farmacêuticos ativos é de grande importância em estudos de pré-formulação de produtos, principalmente para os medicamentos administrados por via oral. Para que a absorção do fármaco ocorra é necessário que as suas moléculas estejam em solução no local de absorção, portanto, a solubilidade em água é um critério importante na síntese de fármacos e desenvolvimento de medicamentos. Durante o processo inicial de triagem de novas moléculas, os candidatos com baixa solubilidade em água podem ser excluídos das etapas subsequentes, pela grande probabilidade de falha em estágios tardios. (SAXENA, et al., 2009; ZAKERI-MILANI, et al. 2009).

Considerando a constituição aquosa dos líquidos corporais, a solubilidade de um fármaco dependerá de suas propriedades moleculares e de sua capacidade de formar pontes de hidrogênio com as moléculas de água. Além das propriedades moleculares, que conferem hidrossolubilidade e/ou lipofilicidade, outros fatores afetam a dissolução dos fármacos, como pK_a , pH, forma cristalina, distribuição granulométrica, entre outros (BONAMICI, 2009; DEZANI, 2010; YU, 2008).

Considerando que aproximadamente 95% dos fármacos disponíveis atualmente são ácidos ou bases fracas, os parâmetros pH e pK_a serão determinantes no processo de dissolução

e, portanto na absorção. Alterações no pH durante a dissolução podem afetar significativamente a biodisponibilidade (SACHAN, et al., 2009).

Um estudo recente estima que 80-90% de compostos orgânicos são capazes de existir em formas polimórficas, capazes de originar diferenças significativas nas propriedades físico-químicas do composto, como por exemplo, ponto de fusão, densidade, morfologia e solubilidade e, por conseguinte, afetar a estabilidade física e química, a biodisponibilidade, a processabilidade durante a fabricação e o produto acabado (CHIENG, et al., 2011).

Do mesmo modo, a granulometria de um pó, ou seja, o tamanho das partículas, também influencia a solubilidade e a velocidade de dissolução, afetando diretamente a biodisponibilidade do fármaco. Partículas menores tendem a se solubilizar mais rapidamente devido ao aumento da área superficial exposta ao solvente e, assim, a velocidade de dissolução é maior (YU, 2008).

Além das características físico-químicas, os fatores fisiológicos e relacionados às características farmacêuticas influenciam na velocidade e extensão da absorção, parâmetros que fundamentam o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB). O SCB divide os fármacos em classes de acordo com suas características de solubilidade e permeabilidade. Hoje, a descoberta de substâncias com alta lipofilicidade e baixa solubilidade aquosa é um problema cada vez mais comum no desenvolvimento de novas formulações administrada por via oral, visto que a maioria dos medicamentos registrados pertence ao SCB classe II (alta permeabilidade, baixa solubilidade) ou IV (de baixa permeabilidade, baixa solubilidade) (LEHTO, et al., 2011; SACHAN, et al., 2009).

A Tabela 1 mostra como o SCB pode ajudar no desenvolvimento de formas farmacêuticas com opções de forma e dosagem para superar as limitações de baixa solubilidade, baixa permeabilidade ou instabilidade. Em geral, os fármacos de classe I apresentam menos desafios durante o desenvolvimento. Os fármacos de classe III do SCB podem ser facilmente formulados. A má absorção de fármacos da classe II do SCB pode ser superada com tecnologias aplicadas à formulação. A liberação de fármacos da classe IV do SCB é muito desafiadora. Fármacos de classe V, uma nova classe estabelecida para fins de desenvolvimento consiste em fármacos com significativa degradação pré-sistêmica no trato gastrintestinal. Apesar de o revestimento entérico ser uma técnica razoavelmente bem-

sucedida na proteção de fármacos da degradação no estômago, esta técnica pode resultar em significativa variabilidade de perfis de concentração plasmática (YU, 2008).

Tabela 1 - Impacto do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) no desenvolvimento de formas farmacêuticas.

Classificação	Impactos
Classe I: Alta solubilidade, alta permeabilidade	-Sem grandes desafios para formas de liberação imediata. -Formas farmacêuticas de liberação controlada podem ser necessárias para limitar o rápido perfil de liberação.
Classe II: Baixa solubilidade, alta permeabilidade	Metodologias empregadas para reduzir problemas na taxa de dissolução: -Redução de tamanho de partículas -Formação de sais -Formas metaestáveis -Dispersão Sólida -Complexação -Tecnologias com lipídios
Classe III: Alta solubilidade, baixa permeabilidade	Alternativas para melhorar a solubilidade: -Pró-fármacos -Pareamento iônico -Promotores de permeação -Bioadesivos

Classificação	Impactos
	-Para essa classe, é apropriado combinar alternativas para superar problemas de solubilidade e permeabilidade dos fármacos Classe II e Classe III.
Classe IV: Baixa solubilidade, baixa permeabilidade	<p>-Estratégias para uso oral muitas vezes não são eficazes.</p> <p>-Utilização de formas farmacêuticas alternativas.</p>
Classe V: Metabolizáveis ou quimicamente instáveis	<p>-Alternativas para amenizar ou evitar instabilidade:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Pró-fármacos -Revestimento entérico -Veículos lipídicos -Inibidores enzimáticos -Liberação linfática (evitar efeito de primeira passagem) -Pró-fármacos lipídicos.

^aCompostos da classe V não pertencem ao SCB. Compostos desta classe podem ter solubilidade e permeabilidade aceitável, mas ainda podem causar desafios na absorção significativa se forem submetidos à degradação luminal e significativa eliminação pré-sistêmica.

Fonte: Adaptado de YU, 2008.

3.5. Polimorfismo

Polimorfismo é a habilidade de um fármaco existir em duas ou mais formas cristalinas com diferentes conformações moleculares. Podem existir na forma de solvatos (formas cristalinas que contêm quantidades estequiométricas de um solvente), hidratos (quando o solvente dos solvatos é água) e amorfos (arranjos moleculares desordenados) (STORPIRTIS, et al., 2009).

A existência de formas polimórficas do fármaco pode afetar a desempenho da forma farmacêutica através da alteração de sua biodisponibilidade ou estabilidade. Além disso, este fenômeno pode afetar a reprodutibilidade dos lotes industriais, tanto na produção do fármaco como do medicamento (COSTA, 2005).

Formulações onde se encontra o fármaco parcialmente cristalino e amorfo são muito mais solúveis que as que contêm o fármaco altamente cristalino. Esta propriedade pode ser utilizada para promover um efeito terapêutico mais rápido do medicamento, aumentando a velocidade de dissolução e a absorção do fármaco. Por outro lado, formulações contendo formas amorfas são menos estáveis e, geralmente, apresentam riscos de cristalização durante o processo produtivo e durante seu período de armazenamento. Tais produtos são em geral muito reativos e pouco estáveis quando expostos ao estresse mecânico e térmico, e muito suscetível a absorção de umidade. (HUANG, TONG, 2004; OLIVEIRA, YOSHIDA, GOMES, 2011).

O polimorfismo pode interferir em todas as formas farmacêuticas, e essa interferência é devido às variações que cada forma polimórfica apresenta. As propriedades que podem ser afetadas pelo polimorfismo estão apresentadas na tabela 2.

Tabela 2 - Propriedades físico-químicas afetadas pelo polimorfismo.

Propriedades de empacotamento	Propriedades espectroscópicas
- Volume molar e densidade	- Transições eletrônicas UV-VIS
- Índice de refração	- Transições vibracionais IR-RAMAN
- Condutividade térmica e elétrica	- Transições rotacionais IR-Lejano
- Higroscopicidade	- Transições <i>spin</i> nuclear RMN
Propriedades Termodinâmicas	Propriedades cinéticas
- Temperatura de fusão e sublimação	- Velocidade de dissolução
- Energia interna ou entropia	- Velocidade de reação de estado sólido
- Capacidade calorífica	- Estabilidade
- Potencial químico e energia livre	
	Propriedades superficiais
- Atividade termodinâmica	- Energia livre de superfície
- Pressão de vapor	- Tensões interfaciais
- Solubilidade	- Forma cristalina
	Propriedades mecânicas
	- Dureza, compatibilidade e compressibilidade
	- Reologia, tensão superficial, propriedades de mistura.

Fonte: STORPIRTIS, et al., 2009.

3.6. Análise Térmica

Os métodos termo analíticos têm sido amplamente utilizados na área farmacêutica para avaliação de compatibilidade, caracterização térmica, determinação da pureza e quantificação de fármacos e excipientes. Vários estudos descrevem a aplicação da Termogravimetria (TG), análise térmica diferencial (DTA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC), na identificação, determinação da estabilidade e decomposição térmica de inúmeros insumos farmacêuticos ativos (OLIVEIRA, et al., 2010; SOARES-SOBRINHO, 2010; SOVIZI, 2010; TIȦ, et al., 2010).

Essas técnicas formam um conjunto de métodos pelos quais as propriedades de uma amostra são medidas em função da temperatura e/ou tempo, enquanto a amostra é submetida, em um sistema controlado, a altas temperaturas sob uma atmosfera específica. São estratégias relativamente simples para estudos de intermediários de sínteses e mostra-se úteis no estudo de fármacos, tanto em análises de rotina na indústria farmacêutica, quanto em estudos de pré-formulação, visando à obtenção e triagem de formulações mais estáveis (RODRIGUES, et al., 2008; RAMIREZ, 2010; BAZZO, SILVA, 2005)

Nesse contexto, medir e registrar o fluxo de calor durante o processo de fusão por meio do DSC torna-se uma forma prática para a geração de dados como: pureza da amostra, entalpia de fusão e da temperatura de fusão. A determinação do ponto de fusão vem sendo bastante empregada como método de avaliação do grau de pureza de fármacos, pois, nesta avaliação, quanto maior a concentração de impurezas na amostra, menor é o ponto de fusão e mais larga é sua faixa (OLIVEIRA, et al., 2011; RODRIGUES, et al., 2005; TIȦ, et al., 2010).

3.7. Reologia e granulométrica

Os pós são muito difundidos na indústria farmacêutica, pela sua segurança e viabilidade da produção de cápsulas e comprimidos. Porém, suas características de mistura,

compressão e fluxo devem ser analisados, pois fatores como: densidade, tamanho e forma da partícula podem influenciar no seu processo fabril. Ao examinar as propriedades de fluxo de um pó é interessante avaliar seu comportamento, principalmente antes do início de sua produção (AULTON, 2005; LIMA, et al., 2011; MOTHE, et al., 2006;).

Dessa forma, no desenvolvimento de uma nova formulação, deve-se dar atenção a fatores capazes de retardar ou acelerar o processo de disponibilização do fármaco no organismo, dentre eles: tamanho da partícula, tempo de desintegração, dissolução, presença de excipientes hidrofóbicos e/ou hidrofílicos, propriedades físico-químicas, reológicas, dentre outras. O conhecimento dessas propriedades torna-se importante para os insumos farmacêuticos por influenciarem diretamente na sua preparação e desenvolvimento, uma vez que este processo envolve a utilização de máquinas e equipamentos que podem levar a uma perda de material, com posterior comprometimento do produto final (VIANA, et al., 2006; STORPIRTIS, et al., 2009).

A análise granulométrica tem por finalidade obter dados sobre o tamanho, a distribuição e a forma das partículas. Devido à maioria dos insumos farmacêuticos apresentarem-se sob a forma sólida, avalia-se o fármaco e os demais componentes que serão utilizados na formulação (LU, ROHANI, 2009; STORPIRTIS, et al., 2009).

A distribuição granulométrica do pó afeta a produção de medicamentos nas etapas de mistura e enchimento dos equipamentos, além de interferir em sua estabilidade e eficácia terapêutica. Se os pós, quando apresentarem tamanhos diferentes de partícula, deverão possuir diferentes propriedades de fluxo e empacotamento, as quais se correlacionam com a sua velocidade de dissolução, parâmetro que merece atenção especial, além de um controle rigoroso (AULTON, 2005; LIMA, et al., 2011).

3.8. Estabilidade de fármacos e medicamentos

Nas últimas décadas, a avaliação da estabilidade de produtos farmacêuticos tem recebido atenção especial tanto pelas agências reguladoras como pelas indústrias farmacêuticas. A primeira, sob uma perspectiva de supervisão e de regulamentação, objetiva

avaliar a eficácia e segurança do medicamento, a fim de manter e / ou restaurar a saúde. Em contrapartida, as indústrias farmacêuticas objetivam, além da eficácia e segurança, a questão econômica, uma vez que desvios na qualidade do produto podem gerar um custo muito elevado, no caso de *recall* do produto, por exemplo. (KOVARIKOVA, et al., 2004; SOARES, 2011; SOMMA, 2007).

A estabilidade de um fármaco ou medicamento é definida como a capacidade do produto em manter as mesmas condições e características que possuía quando da época de sua fabricação dentro dos limites especificados durante todo o período de estocagem e uso. Pode também ser definida como o período de tempo compreendido entre o momento no qual o produto está sendo fabricado, até o qual sua potência está reduzida a não mais que 10%, desde que os produtos de degradação estejam todos seguramente identificados e seus efeitos sejam previamente reconhecidos (BRASIL, 2005; ROLIM, 2010; SILVA, et al., 2009; SOARES; 2010).

O monitoramento da estabilidade de medicamentos é um dos métodos mais eficazes para avaliação, previsão e prevenção de problemas relacionados à qualidade do produto durante seu tempo de validade. Além disso, a segurança e a eficácia dos fármacos podem ser avaliadas através da formação de produtos de degradação a partir dos estudos de estabilidade, que podem gerar perda de sua atividade terapêutica ou toxicidade (CARVALHO et al., 2005; KOVARIKOVA, et al., 2004; SEHRAWAT, MAITHANI, SINGH, R, 2010).

As primeiras alternativas para previsão do prazo de validade de medicamentos foram estabelecidas na década de 50. Até a década de 80, as metodologias de avaliação da estabilidade seguiam princípios técnicos e científicos sem interferências de atos regulatórios de autoridades sanitárias. Com o comércio internacional, iniciou-se a especialização das unidades produtivas, racionalização da produção e reconhecimento das zonas climáticas dos países importadores. Foram adotados então, por diferentes países, regulamentos para previsão do prazo de validade de fármacos e medicamentos (CARVALHO et al., 2005; SOARES; 2009).

No Brasil, a primeira diretriz a cerca do assunto surgiu em 2002, visando à harmonização da legislação sanitária dentre os membros do MERCOSUL. Atualmente a

legislação que norteia os estudos de estabilidade no país é a RE n° 01, de 29 de julho de 2005 (BRASIL, 2002; BRASIL, 2005; SOARES, 2009).

O objetivo inicial da adoção deste tipo de estudo foi à definição do prazo de validade de medicamentos, no entanto, um enfoque maior tem sido dado aos produtos de degradação obtidos na execução do teste. Assim, ao longo do delineamento de um medicamento, desde a caracterização do fármaco aos ensaios pós-registro do produto final, os testes de estabilidade têm grande importância (LEITE, 2006; SILVA, et al., 2010).

3.8.1. Estabilidade

A estabilidade de produtos farmacêuticos é afetada por fatores extrínsecos ou ambientais, como temperatura, umidade e luz, e intrínsecas, ou relacionadas ao próprio produto, como propriedades físico-químicas dos constituintes, forma farmacêutica, processo de fabricação e materiais de embalagem. As variáveis avaliadas nos estudos de estabilidade podem ser classificadas conforme a Figura 2 (BRASIL, 2005; CARSTENSEN, RHODES, 2007; LAGRANGE, 2010; SOARES, 2009; CHAVES, L.L).

Tabela 3 - Parâmetros avaliados na estabilidade de fármacos e medicamentos.

Parâmetros	Avaliados
Químicos	Estrutura e Potência
Físico	Propriedades organolépticas
Microbiológicos	Crescimento microbiano
Terapêuticos	Efeito Farmacológico
Toxicológicos	Produtos de degradação tóxicos

A estabilidade química provavelmente é o aspecto mais importante da estabilidade farmacêutica, pois determina a seleção das condições de armazenamento e do material de embalagem primária, além de antecipar as interações fármaco-excipiente na formulação. A

manutenção das características físicas está relacionada aos aspectos intrínsecos do fármaco ou forma farmacêutica. Comprimidos podem tornar-se mais friáveis ao longo tempo, da mesma forma que uma emulsão poderá sofrer coalescência, com quebra da emulsão, quando submetida a condições adversas (GOPINATH, NAIDU, 2011; LAGRANGE, 2010; LASZCZ, et al., 2010).

A conservação da matéria-prima e da formulação contra a contaminação microbiológica pode ser atingida com a adoção de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e emprego racional de agentes conservantes, de modo que os mesmos não mascarem o crescimento microbiano advindo do processo de fabricação, nocivos ao paciente (LAGRANGE, 2010; PINTO, et al., 2010).

As propriedades terapêuticas e toxicológicas são cruciais durante o *screening* de novas moléculas potencialmente bioativas. Os aspectos farmacocinéticos e farmacodinâmicos são essenciais para definição do esquema terapêutico e, os toxicológicos avaliam a ação negativa de impurezas e produtos de degradação no organismo (ANSEL, 2007; GOPINATH, NAIDU, 2011; BRINTON; 2007; KATZUNG, 2006).

3.8.2. Testes de estabilidade

O estudo de estabilidade é uma etapa fundamental para garantir a qualidade e segurança de um medicamento. A partir desse estudo podem-se obter evidências sobre o comportamento das alterações de um medicamento ao longo do tempo, sob a influência de uma variedade de fatores, estabelecendo o prazo de validade, assim como as condições de armazenamento do medicamento (ICH, 1993; SEHAWAT, MAITHANI, SINGH, 2010).

Tais estudos são classificados em acelerado, de longa duração e de acompanhamento. O estudo acelerado é projetado para aumentar a velocidade de degradação química e/ou alterações físico no produto farmacêutico pela utilização de condições drásticas de armazenamento (umidade relativa e temperatura), com o propósito de monitorar as reações de degradação e estimar o prazo de validade, dentro de 6 meses de estudo (BRASIL, 2005).

O estudo de longa duração é realizado em condições normais de armazenamento, com o objetivo de confirmar dados obtidos no estudo acelerado (BRASIL, 2005; WHO, 1996). São projetados para verificação das características do produto farmacêutico durante e depois do prazo de validade esperado. Tal estudo deve ser realizado de acordo com as condições climáticas do país em que se pretende registrar o produto, considerando que o mundo é classificado em quatro grandes zonas. Os testes de controle de qualidade são realizados normalmente a cada três meses no primeiro ano e a cada 6 meses no segundo, a partir da data de fabricação do lote (ICH, 2003; SOARES, 2009).

Com os resultados obtidos no estudo de estabilidade acelerada e no estudo de estabilidade de longa duração, é possível avaliar qualitativa e quantitativamente as alterações químicas e físicas após exposições a condições ideais de armazenamento e transporte, as quais serão estabelecidas no material de embalagem do medicamento (ICH, 2003; SOARES 2009).

O estudo de estabilidade de acompanhamento é realizado após concessão do registro ou notificação do produto, e tem por objetivo verificar a manutenção das suas características, conforme os resultados obtidos nos estudos preliminares. Desta forma, assegura-se que um controle de mudanças efetivo está sendo adotado e seu impacto sobre o produto final avaliado periodicamente (SOARES, 2009; BRASIL, 2005).

Como o propósito dos estudos de estabilidade é monitorar possíveis alterações de um produto ou material ao longo do tempo e em condições de armazenamento diferentes, espera-se que todos os métodos analíticos aplicados no estudo sejam, verdadeiramente, indicativos de estabilidade, a fim de detectar e quantificar com precisão o fármaco e todos os seus produtos de degradação. Com isso, as prováveis mudanças que possam ocorrer durante o processo de formulação e produção, armazenamento e transporte poderão ser controladas, o que é relevante para a qualidade do produto farmacêutico e, conseqüentemente, para a segurança do paciente (BAERTSCHI, 2006; HUYNH-BA, 2009; SEHRAWAT, MAITHANI, SINGH, R, 2010).

3.8.3. Estudos de degradação

Os estudos de degradação forçada de fármacos são definidos como testes realizados em condições superiores às utilizadas em estudos de estabilidade acelerada e têm o objetivo de avaliar a estabilidade intrínseca da molécula e fornecer informações sobre mecanismos de degradação e possíveis subprodutos dessas reações (ALSATE, MARTIN, BAERTSHI, 2003; KLICK, et al., 2005; SOARES, 2009).

Esses estudos são um aspecto importante da pré-formulação e desenvolvimento de métodos analíticos, pois ajudam a avaliar a estabilidade intrínseca de um medicamento por aplicação deliberada de estresse para forçar degradação. A degradação da amostra é induzida através do aumento da temperatura, do aumento da umidade (quando relevante), da exposição a condições variadas de pH ou à luz UV-visível intensa (fotoestabilidade) ou pela adição de outros reagentes (por exemplo, ácidos, bases, peróxidos). Estudos de degradação forçada são por vezes descritos como testes de estresse, e também são realizados durante a validação de métodos analíticos (QIU, et al., 2009; SEHAWAT, MAITHANI, SINGH, 2010).

A reação mais frequentemente observada é a hidrólise, porque a água é o solvente predominante em formulações líquidas e devido à estrutura química da maioria dos fármacos possuir grupos funcionais suscetíveis. A presença de oxigênio, quando ativado por traços de catalisadores, como íons metálicos, por exemplo, leva à auto-oxidação dos constituintes, ou ainda mediante adição de peróxido de hidrogênio. Outras reações menos frequentes são as de fotólise, isomerização e polimerização, que são mais prováveis de ocorrer com determinados tipos de excipientes (SEHRAWAT, MAITHANI, SINGH, 2010; LOUATI, et al., (2011; ROLIM, 2010).

Para isso, as condições forçadas de degradação utilizadas durante o desenvolvimento do método, como a concentração das soluções hidrolíticas e o tempo de exposição, devem ser estabelecidas de tal forma que se obtenha um nível de degradação desejada, em média 10 a 20% (BAERTSCHI, 2006; HUYNH-BA, 2009; SEHRAWAT, MAITHANI, SINGH, 2010).

Em estudos mais detalhados, produtos de degradação também podem ser identificados, uma vez que durante a última década, o acoplamento de diferentes equipamentos tornou as técnicas mais robustas para a análise farmacêutica. A separação fornecida por um sistema

cromatográfico de alta resolução, combinado com uma técnica quantitativa sensível e específica o bastante, possibilita a detecção de incógnitas em misturas complexas, tais como formulações (MONAJJEMZADEH, et al., 2009).

3.8.4. Cinética de reação

Cinética é o estudo da velocidade na qual os processos ocorrem, objetivando fornecer informações que permitam a compreensão dos mecanismos das transformações envolvidas e a previsão do grau de transformação que ocorrerá após um dado intervalo de tempo. As transformações podem ser químicas ou físicas, as quais determinam a estabilidade e o prazo de validade de produtos farmacêuticos, enfatizando a influência recíproca dos componentes ativos e excipientes e a conseqüente variação dos valores de energia de ativação (AULTON, 2005; LEITE, 2005; RODANTE, et al., 2002; SOARES, 2009).

A análise da cinética de decomposição deverá produzir uma descrição adequada do processo em termos do modelo de reação e dos parâmetros de Arrhenius. As reações de degradação de produtos farmacêuticos ocorrem com velocidade definida, portanto ao considerar sua estabilidade, é preciso conhecer a ordem e a velocidade de reação. Esta é uma descrição da concentração do fármaco em relação ao tempo. Em geral, estas reações podem ser de ordem zero (quando a velocidade independe das concentrações dos reagentes) e de primeira ordem (quando a velocidade de reação é proporcional à concentração de um reagente) e, mais raramente, de segunda ordem (quando a velocidade de reação é proporcional ao produto das concentrações de dois reagentes) (RODANTE, et al., 2002; YOSHIOKA, STELLA, 2002).

3.9. Métodos existentes na Literatura para doseamento da Ivermectina

3.9.1. Métodos analíticos para quantificação de ivermectina

Os métodos encontrados em literatura para quantificação desse fármaco são em sua grande maioria, realizados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), variando apenas o tipo de detector, como ultravioleta (UV), arranjo de diodos (DAD) ou espectrômetro de massas, com o recurso da espectrometria de massas sequencial (EM/EM) (LAPACHINSKE, 2004)

4.2 Métodos analíticos aplicados ao fármaco ivermectina

Para quantificação da ivermectina em matéria-prima, tanto a Farmacopéia Européia (EUROPEAN, 2007) quanto a Farmacopéia Americana (USP, 2008) descrevem método por CLAE-UV. A Farmacopéia Americana (USP, 2008) também descreve metodologia por CLAE-UV para doseamento da ivermectina em injetável, pasta, solução e comprimidos. Foram encontradas na literatura metodologias por cromatografia líquida de alta eficiência e cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada ao espectrômetro de massas, com o recurso da espectrometria de massas sequencial e CLAE-EM/EM, respectivamente) para quantificação da ivermectina no leite (DURDEN, 2007; KINSELLA et al., 2009; MARTINEZ VIDAL et al., 2010; WHELAN et al., 2010), alimentos (HERNANDO et al., 2007), plasma (CROUBELS et al., 2002) e tecido animal (INOUE et al., 2009).

Método por infusão direta no espectrômetro de massas também foi encontrado para identificação da ivermectina em tecido animal, a fim de avaliar possíveis casos de intoxicação (LEHNER et al., 2009). Os principais parâmetros destes métodos estão descritos na tabela.

Tabela 4 - Métodos analíticos aplicados ao fármaco Ivermectina.

Tipo de Amostra	Preparo de Amostra	Método Utilizado	Condições de Análise	Referência
Matéria Prima	A amostra e dissolvida e diluída em metanol.	CLAE-UV	Coluna: C 18 250 x 4,6 mm,5 μ m Fase móvel: água/metanol/acetonitrila 19,5 27,5 53 v/v Em modo isocrático Volume de injeção 50 μ L Fluxo: 1,5 mL min ⁻¹ Detector UV 254 nm	USP,2008
Injetável Pasta solução Tópica	A amostra e dissolvida e diluída em metanol.	CLAE-UV	Coluna: C 18 250 x 4,6 mm,5 μ m Fase móvel: água/metanol/acetonitrila 39, 55, 106 v/v Em modo isocrático Volume de injeção 20 μ L Fluxo: 1,5 mL min ⁻¹ Detector UV 245 nm	USP,2008
Comprimido	Amostra é transferida para um balão volumétrico de 250 mL e a extração é realizada com 25 mL de água e 175 mL de metanol através de sonicação.	CLAE-UV	Coluna: C 18 250 x 4,6 mm,5 μ m Fase móvel: água/metanol/acetonitrila 12, 35, 53 v/v Em modo isocrático Volume de injeção 10 μ L Fluxo: 1,2 mL min ⁻¹ Detector UV 245 nm	USP,2008
Matéria Prima	A amostra e dissolvida e diluída em metanol.	CLAE-UV	Coluna: C 18 250 x 4,6 mm,5 μ m Fase móvel: água/metanol/acetonitrila 15, 34, 51 v/v Em modo isocrático Volume de injeção 20 μ L Fluxo: 1 mL min ⁻¹ Detector UV 254 nm	EUROPEAN, 2007

As metodologias constantes em farmacopéias (por exemplo, British Pharmacopeia, 2007), servem como base para desenvolvimento de métodos, porém não abrangem a detecção de produtos de degradação, provenientes de estudos de estabilidade. (CIONE, SILVA 2008)

O presente trabalho tem como objetivo descrever uma metodologia analítica validada seletiva para produtos de degradação, desenvolvida utilizando-se amostras degradadas sob condições estressantes (hidrólise ácida, hidrólise alcalina, luz, calor, oxidação, por peróxido) aplicável a matéria Prima.

3.10. Validação de Métodos Analíticos

No caso de um sistema analítico, a validação objetiva assegurar o cumprimento às exigências das suas aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados obtidos (BRASIL, 2003; LANÇAS, 2004; GOMES,2009; ERMER,2001).

A necessidade de se mostrar a qualidade de medições químicas, através de sua comparabilidade, rastreabilidade e confiabilidade, está sendo cada vez mais reconhecida e exigida. Dados analíticos não confiáveis podem conduzir a decisões desastrosas e a prejuízos financeiros irreparáveis. Para garantir que um novo método analítico gere informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra, ele deve sofrer uma avaliação denominada validação. A validação de um método é um processo contínuo que começa no planejamento da estratégia analítica e continua ao longo de todo o seu desenvolvimento e transferência. Para registro de novos produtos, os órgãos reguladores do Brasil e de outros países exigem a validação de metodologia analítica e, para isso, a maioria deles tem estabelecido documentos oficiais que são diretrizes a serem adotadas no processo de validação. Um processo de validação bem definido e documentado oferece às agências reguladoras evidências objetivas de que os métodos e os sistemas são adequados para o uso desejado. (GOMES;2009; ERMER;2001, SHABIR,2003)

O tipo de método e seu respectivo uso determinam quais parâmetros devem ser investigados, pois, tanto a Farmacopéia Americana (USP) quanto o International Conference on Harmonisation (ICH, 2005), reconhecem que não há necessidade de se avaliar todos os parâmetros de desempenho analítico (SWARTZ e KRULL, 1998; ERMER, 2001; RIBANI *et al.*, 2004).

Tabela 5 - Características de validação de acordo com os tipos de procedimento analítico, segundo as recomendações do ICH.

Procedimento analítico /Características	Identificação	Teste de Impureza		Doseamento
		Quantitativo	Ensaio-limite	
Exatidão/ Precisão	Não	Sim Não		Sim
Repetibilidade	Não	Sim	Não	Sim
Precisão Intermed.	Não	Sim	Não	Sim
Especificidade	Sim	Sim	Sim	Sim
L. detecção	Não	Em alguns	Sim	Não
L. Quantificação	Não	Sim	Não	Não
Linearidade	Não	Sim	Não	Sim
Faixa de variação	Não	Sim	Não	Sim

Além dos parâmetros citados quando se emprega CLAE, outros parâmetros de conformidade do sistema cromatográfico devem ser avaliados, como, fator de capacidade, repetibilidade de tempo de retenção e de área, resolução, assimetria e número de pratos teóricos da coluna (CHASIN *et al.*, 1994; RIBANI *et al.*, 2004).

A especificidade (ou seletividade) de um método analítica expressa à habilidade de avaliar de forma inequívoca a substância de interesse na presença outras substâncias ativas, excipientes, impurezas ou contaminantes (BRASIL, 2003; LANÇAS, 2004).

A linearidade de um método analítico corresponde à sua capacidade de fornecer resultados (intensidade da resposta do detector) diretamente proporcionais à quantidade da substância analisada dentro de um intervalo de concentração definido (BRASIL, 2003; LANÇAS, 2004; LAPACHINSKE, 2004).

Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) de um método analítico correspondem, respectivamente, à menor concentração da substância de interesse que pode ser detectada e quantificada com precisão e exatidão satisfatórias (LANÇAS, 2004; SHABIR, 2003; GOMES; 2009)

A precisão é a medida da concordância entre os valores experimentais obtidos pela execução repetida do procedimento em uma mesma amostra e deve ser a primeira etapa no estabelecimento de um método quantitativo de análise. Esse parâmetro é avaliado pelo desvio padrão relativo (DPR) inter-dias (precisão intermediária) e intra-dia (repetibilidade) (LANÇAS, 1993; CHASIN 1994)

Em análises cromatográficas faz-se necessário conhecer a repetibilidade do tempo de retenção e da área do pico. A repetibilidade do tempo de retenção é importante porque, na maioria das análises, é usada para confirmar a identidade do composto (análise qualitativa) e a repetibilidade da área do pico, por ser um parâmetro utilizado na quantificação da substância de interesse (GOMES, 2009; ERMER, 2001; LANÇAS, 2004).

A exatidão de um método analítico representa a proximidade entre os resultados obtidos e um valor aceito como verdadeiro e pode ser avaliada pelo teste de recuperação, onde quantidades conhecidas são adicionadas à amostra (BRASIL, 2003).

Embora não faça parte de alguns procedimentos de validação, a robustez deve ser também avaliada. Esse parâmetro mede a confiabilidade do método em condições normais de operação, permitindo fixar as tolerâncias dos fatores que influenciam o método, ou seja, verifica a capacidade de não sofrer alterações em decorrência de pequenas variações deliberadamente introduzidas nos parâmetros experimentais (BRASIL, 2003b; LANÇAS, 2004; SHABIR, 2003)

CAPÍTULO II

ESTUDO DE PRÉ-FORMULAÇÃO DO FÁRMACO IVERMECTINA UTILIZADO COMO ANTIPARASITÁRIO DE AMPLO ESPECTRO

Artigo submetido ao AAPS PharmSciTech – B2 (Qualis CAPES)

4 CAPÍTULO II

Artigo 1 – ESTUDO DE PRÉ-FORMULAÇÃO DO FÁRMACO IVERMECTINA UTILIZADO COMO ANTIPARASITÁRIO DE AMPLO ESPECTRO

Artigo submetido ao JTAC – B2 (Qualis CAPES)

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a matéria prima ivermectina (IVC) um fármaco amplamente utilizado por suas características farmacológicas. Foram realizadas análises por espectroscopia de absorção no infravermelho, de massas para identificação da molécula, análises para confirmação da estrutura cristalina do fármaco (microscopia eletrônica de varredura e difração de raios X), bem como, análise de repartição granulométrica, densidade aparente e compactada, que permitiu concluir que mesmo apresentando uma estrutura cristalina a IVC possui boas características de fluxo e compressibilidade. A Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e a termogravimetria (TG) foram utilizadas para caracterização térmica da IVC, determinação do ponto de fusão (157°C), temperatura inicial de degradação (305°C), perdas de massa com o aumento da temperatura (3 eventos, a primeira uma dessovatação e a degradação em duas etapas consecutivas). Utilizando as técnicas supracitadas foi possível realizar um estudo de compatibilidade IVC: excipientes (utilizados em formas farmacêuticas sólidas), que demonstrou uma incompatibilidade da IVC com lactose e amido. Com base nesses resultados o desenvolvimento de novas formas farmacêuticas, bem como o controle de qualidade das formas já existentes no mercado pode ser realizado de forma mais racional, com um melhor entendimento das características da IVC.

Palavras-chave: caracterização físico-química, matéria prima, técnicas analíticas.

ABSTRACT

The aim of this study was to characterize the raw material ivermectina (IVC) a drug widely used for their pharmacological characteristics. Were analyzed by infrared absorption spectroscopy, mass to identify the molecule, analysis to confirm the crystalline structure of the drug (electronic scanning microscopy and X-ray diffraction) as well as analyzing particle size distribution, apparent density and compacted, allowing cochlear even presenting a crystalline structure IVC has good flow characteristics and compressibility. The Differential Scanning Calorimetric (DSC) and thermogravimetric analysis (TG) were used for thermal characterization of IVC determining the melting point (157°C) initial temperature of degradation (305°C), mass loss with increasing temperature (3 mass loss steps, a first desolvation and degradation in two consecutive steps). Using the above techniques it was possible to perform a compatibility study IVC: excipients (used in solid dosage forms), which demonstrated an incompatibility of the IVC with lactose and starch. Based on these results the development of pharmaceutical forms, as well as quality control of the ways already on the market can be performed more rationally, with a better understanding of the characteristics of IVC.

Keywords: physical-chemical characterization, raw material, analytical techniques.

INTRODUÇÃO

A ivermectina é um produto semi-sintéticos obtido a partir da avermectinas sintetizado naturalmente pelo microorganismo *streptomyces avermitilis*. Consiste em uma mistura de homólogos e contém não menos que 80% da dihidroavermectina B1a (H_2B_{1a}) e não mais que 20% da dihidroavermectina B1b (H_2B_{1b}) (CERKVENIK et al., 2001; Ômura, 2008).

É utilizada como princípio ativo com ampla ação medicamentosa com aplicação em tratamento de sarnas, vermes e piolhos, atuando no sistema nervoso e função muscular, resultando em paralisia e morte dos parasitos (DENT et. al., 1997).

A ivermectina deve ser considerada um fármaco crítico, que deve ser controlado em suas características físico e químico, na indústria farmacêutica. Quimicamente a IVC apresenta-se como uma mistura de isômeros estruturais, os quais possuem atividade e toxicidade diferentes, sendo preconizado que a matéria prima não possua menos que 80% do isômero B_{1a} (USP, 2011), enquanto que fisicamente apresentam-se como um fármaco pouco solúvel de estrutura cristalina (classe II na classificação biofarmacêutica), todos estes pontos críticos devem ser trabalhados na obtenção tecnológica de formas farmacêuticas.

O conceito de Quality by Design (QbD) é uma sistemática, científica, baseada no risco integral, e abordagem proativa para o desenvolvimento de medicamentos que começa com objetivos previamente definidos e enfatiza produto e compreensão do processo de fabricação, bem como controle de processos (YU, 2008). O QbD significa que a garantir a qualidade, melhorando os métodos científicos devem ser utilizados nas fases da pesquisa, desenvolvimento e design, para que o processamento do produto seja o mais breve quanto possível (XU, KHAN, BURGESS, 2011; WU et al, 2007). O QbD identifica características críticas dos fármacos para a qualidade da perspectiva de produção, que traduz os atributos que o medicamento deve possuir para garantir a segurança e eficácia para os usuários dos produtos farmacêuticos.

Desta forma, é iminente a necessidade de rever e aprimorar a caracterização físico-química da IVC, uma vez que, só os testes farmacopéicos atualmente exigidos, não são suficientes para apontar diferenças sutis entre as matérias-primas. Esta avaliação pode ser uma das ferramentas da qualidade da referida matéria-prima que, mesmo se originada de diversos fabricantes e utilizada na fabricação de comprimidos, deve proporcionar discriminação de resultados ou interpretação consistente.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiais

Foram utilizados dois lotes de ivermectina, um lote de matéria prima cedido pelo Laboratório Veterinário Vallée[®] (Lote: 07016/2010, fabricado na China), e o padrão de ivermectina adquirido na Sigma Aldrich[®], lote: 70288-86-7 (pureza: 95% H₁B_{1a} + 2% de H₁B_{1b}).

As misturas binárias (MB) 1:1 (p/p) da IVC com os excipientes foram preparadas utilizando almofariz e pistilo, triturando a mistura durante 3 minutos cada. Para o preparo das MBs foram utilizados os excipientes: celulose microcristalina (CMC), talco, polivinilpirrolidona (PVP) K-30, croscarmelose sódica, Starch[®] (amido pré-gelatinizado), Starlac[®] (85% lactose monoidatada + 15% amido – obtidos por *spraydried*), Flowlac[®] (lactose monoidratada *spraydried*), Tabletose[®] (lactose monoidratada) e Aerosil[®] (dióxido de silício coloidal).

Metodologias

Identificação Química

O espectro de infravermelho foi obtido utilizando o equipamento PerkinElmer[®] (Spectrum 400) com dispositivo de reflectância total atenuada (ATR) com cristal de selênio. As amostras a serem analisadas foram transferidas diretamente para o compartimento do

dispositivo de ATR, sendo o resultado obtido da média de 10 varreduras, de 650 a 4000 cm^{-1} na resolução de 4 cm^{-1} . Em adição a identificação por IV foi realizado o espectro de massas utilizando um equipamento marca Shimadzu® IT-TOF, com ionização por nebulização térmica e analisador de massas por tempo de voo, sendo utilizado para diluição do fármaco um sistema acetonitrila: água (50:50), por ionização positiva, com scan de 80 a 950 m / z.

Determinação do teor e Estudo de Solubilidade

As amostras e o padrão de trabalho de IVC foram obtidos a partir de uma diluição inicial de 10 mg de IVC em solução diluente de acetonitrila: metanol: água (26:64: 10), com 5 min de agitação por sonicação, para balão volumétrico de 50 mL, obtendo-se a concentração final de 200 $\mu\text{g/mL}$, com posteriores diluições para 50, 100 e 150 $\mu\text{g/mL}$ para obtenção da curva de calibração da matéria prima, bem como, a realização de três curvas autências de 50, 75, 100, 125 e 150 $\mu\text{g/mL}$ para determinação da linearidade do padrão de IVC, possibilitando a determinação do teor de IVC na matéria prima utilizada neste trabalho.

Inicialmente, as soluções obtidas foram submetidas individualmente a análise por CLAE - DAD, seguindo, inicialmente, os parâmetros descritos por Cione & Silva, 2007-2008, que consiste na utilização de uma coluna C18 250 x 4,6 mm (5 μm) a 25°C, como fase estacionária, uma solução metanol: acetonitrila: ácido acético a 0,2% (260:640: 100 mL v/v), como fase móvel, com fluxo de 1,5mL.min⁻¹ a 254nm. Após algumas análises o método foi otimizado, modificando-se a composição e o fluxo da fase móvel para: metanol: acetonitrila: ácido fosfórico a 0,2% (260:640: 100 mL v/v), como fase móvel, com fluxo de 1 mL.min⁻¹ a 254 nm.

Para determinação da solubilidade da IVC foram realizados dois estudos: um estudo inicial semi-quantitativo de acordo com o recomendado pela Farmacopéia Brasileira 5ª edição (2010) e USP (2011), sendo testados os solventes: acetato de etila, acetona, acetonitrila, ácido clorídrico 0,2 M, água, álcool etílico absoluto, álcool metílico diclorometano, éter etílico, hidróxido de sódio 0,2 M, n-hexano e peróxido de hidrogênio 3% (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 5ª ed. 2010; USP, 2011). E um estudo quantitativo utilizado o método descrito para determinação do teor de IVC por CLAE-DAD em que amostras de IVC foram adicionadas a soluções de: água, pH 6,8 (50 mL de sol. H₂KPO₄ 0,1M + 23,65 mL sol. NaOH 0,1M + água q.s.p 100 mL), pH 4,0 (9,35 mL de Na₂HPO₄ 0,2 M + 10,65 mL de ácido cítrico

0,1M + água q.s.p. 100mL), pH 1,2 (50 mL de solução tampão H₃BO₃.KCl 0,1M + 97mL de sol HCl 0,2M + água q.s.p. 200mL) com e sem a lauril sulfato de sódio (LSS) a 1%, até obtenção de solução saturada (com retirada de alíquotas em 24, 72 e 168 horas).

Determinação das características físicas e particulares

Os difratogramas do fármaco foram obtidos no difratômetro SIEMENS[®] (X-Ray Diffractometer, D-5000), equipado com ânodo de cobre. As amostras foram analisadas no intervalo de ângulo 2θ de 2-60 a uma velocidade de digitalização de 0,02° 2θ/s. As amostras foram preparadas em suportes de vidro com uma fina camada de material do pó sem solvente.

A avaliação da morfologia dos cristais de IVC foi realizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) utilizando-se um microscópio Jeol[®] JSM-5900, após serem fixadas em fita de dupla face de carbono e metalizadas com ouro por 15 min (Metalizador Baltec[®] SCD 050). As eletromicrografias foram obtidas em uma câmara com tensão de excitação de 15 KV.

A determinação da distribuição do tamanho das partículas foi verificada através de tamisação utilizando tamises padronizados e superpostos (0, 75, 90, 150, 250, 425, 500 μm), montados numa base munida de vibração magnética (Tamizador Bertel[®]) durante 20 minutos, em triplicata.

A densidade do pó foi determinada através de ensaio com 10 g das amostras em um compactador automático (Tap Density, Varian[®]) provido de uma proveta normatizada, em triplicata. O volume inicial ocupado pelo produto foi medido, e posteriormente foram realizadas 10 compactações para acomodação do pó. Em seguida, foram realizadas 1000 compactações, que foram repetidas em seguida, de forma que não foi observada mudança no volume medido. A relação entre a massa das amostras e o volume ocupado pelo pó antes e após a compactação determinou as *densidades aparente* (d_{AP}) e de *compactação* (d_{CP}). A compressibilidade do pó foi avaliada através do Índice de Hausner (IH) e o Índice de Carr (IC) de acordo com as seguintes equações: $IH = d_{CP}/d_{AP}$ e $IC (\%) = (d_{CP} - d_{AP}) / d_{CP} \times 100$, respectivamente. O ângulo de repouso foi medido pelo cone de pó formado através do escoamento do fármaco através de um funil de dimensões padronizadas sobre uma superfície

plana. O tempo de escoamento foi determinado pela medida do tempo necessário para o escoamento de uma quantidade pré-definida de fármaco através do funil, utilizando-se um cronômetro digital.

Caracterização térmica da IVC

Para realização da caracterização térmica da IVC foram realizadas análises de calorimetria exploratória diferencial (*differential scanning calorimetry* - DSC) e termogravimetria (TG). As curvas DSC foram obtidas utilizando Calorímetro Shimadzu® DSC-60 interligado ao software Shimadzu® TA-60WS com atmosfera de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹ em variadas razões de aquecimento (5, 10, 15 e 20°C.min⁻¹) na faixa de temperatura de 25–400°C. As amostras foram colocadas em porta amostra de alumínio hermeticamente fechado com massas de 2 mg ($\pm 0,2$) de amostra, em triplicata. O índio e o zinco foram utilizados para calibrar o equipamento quanto à escala de temperatura e a resposta de entalpia.

As análises TG foram realizadas por meio de termobalança Shimadzu®, modelo TGA Q60, em atmosfera de nitrogênio em fluxo de 50 mL.min⁻¹, sendo a massa da amostra de cerca de 5 mg ($\pm 0,4$), acondicionadas em cadinho de platina na faixa de temperatura de 25 a 600°C na razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹. Antes dos ensaios, a termobalança foi verificada com oxalato de cálcio hidratado.

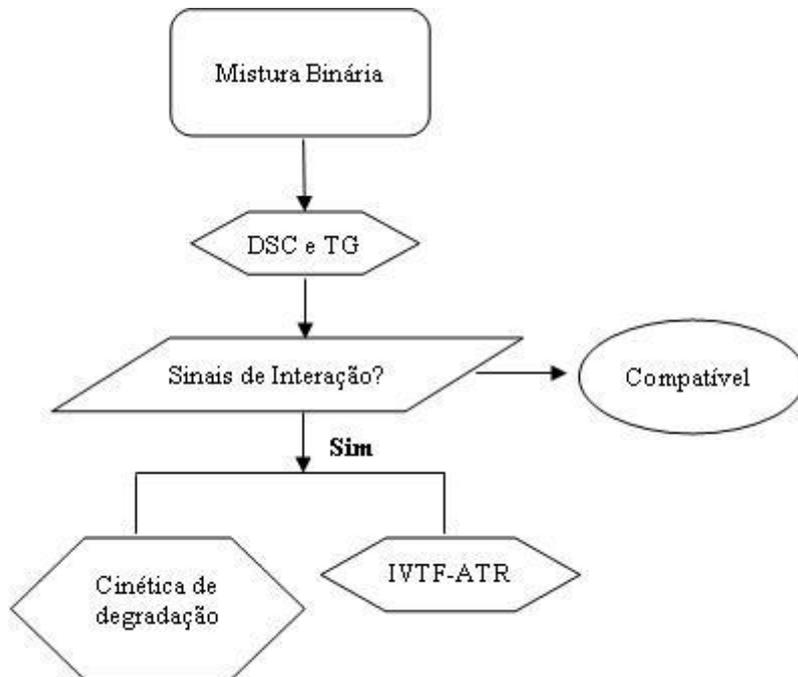
A investigação cinética de degradação não isotérmica da IVC foi obtida a partir dos dados de TG pela aplicação do método de Ozawa. Foram utilizadas taxas de aquecimento 2,5, 5,0, 10, 20 e 40°C.min⁻¹, escala de temperatura entre 30-600°C, em cadinhos de platina com aproximadamente 5 mg de amostras e atmosfera dinâmica de N₂ (50 mL.min⁻¹).

Estudo de Compatibilidade Fármaco-Excipiente

O fluxograma apresentado na Figura 1 apresenta o protocolo utilizado para a realização do estudo. Na primeira etapa, foram realizadas análises da IVC isoladamente e em MB por DSC e TG, sendo os valores referentes a temperatura inicial de fusão (T_i) e

temperatura inicial de decomposição (T_d) foram adotados como indicadores de interação fármaco-excipiente.

Figura. 1 - Fluxograma do estudo de compatibilidade fármaco-excipiente.



As análises de TG para o cálculo da cinética de degradação IV-TF seguiram os mesmos parâmetros descritos para as análises da IVC isolada.

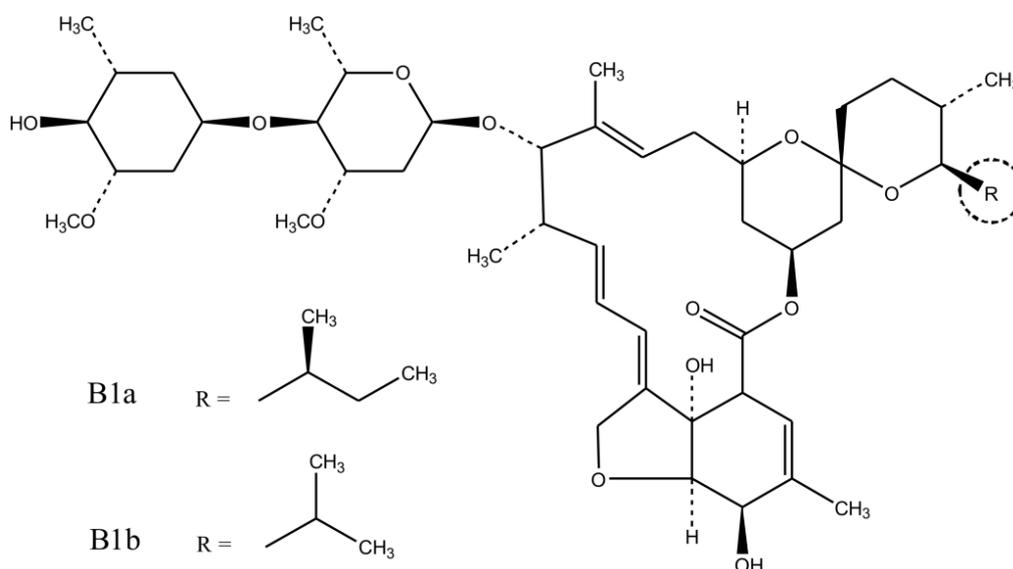
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Identificação química da IVC

A espectrometria de absorção na região do infravermelho (IV) constitui hoje um dos principais recursos para a identificação estrutural de substâncias orgânicas, sendo de extrema importância para o controle de qualidade de matérias primas e excipientes, quando comparamos espectros obtidos com a matéria prima às substâncias de referência podem denunciar a degradação antecipada das mesmas, ou ainda caracterizar processos tecnológicos

como é o caso das micro e nanopartículas que normalmente devem se ligar fracamente aos fármacos para atuarem na melhoria da solubilidade ou vetorização dos mesmos, sendo tais ligações perceptíveis nos espectros de IV-TF.

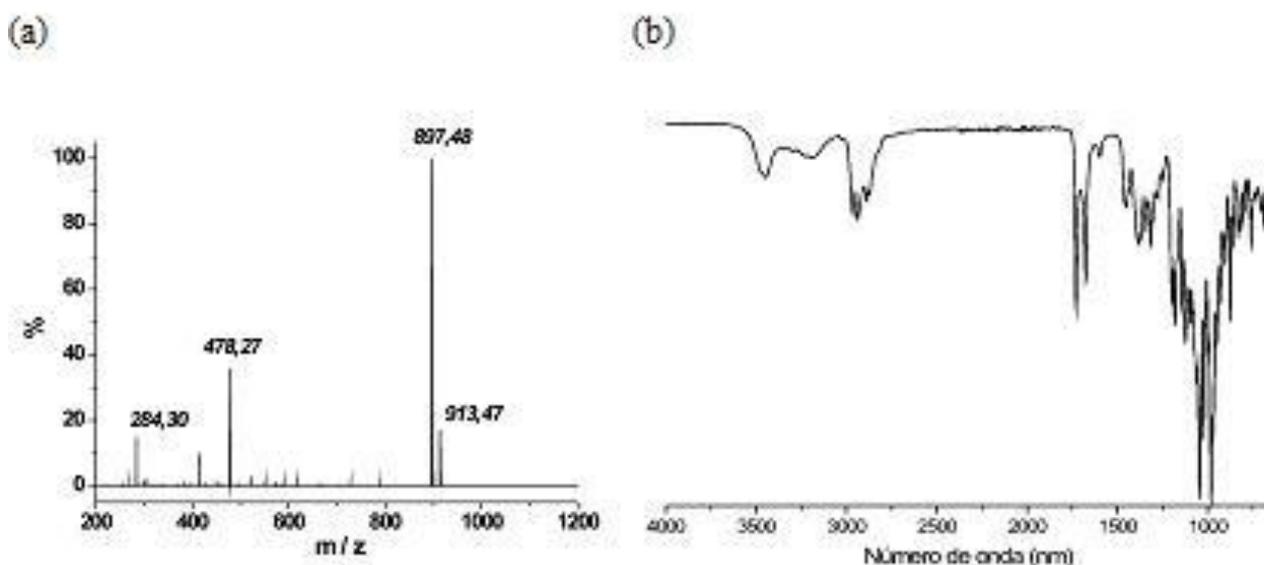
Figura. 2 - Estrutura química da IVC.



A matéria prima de IVC é constituída normalmente de isômeros estruturais que diferenciam em um grupamento CH_3 na estrutura conforme ilustrado na figura 2. Compostos orgânicos com grupamentos éteres apresentam, normalmente, bandas características da presença de ligações C-O, como é o caso da molécula de IVC que é composta apenas de átomos de carbono, oxigênio e hidrogênio, formando anéis e grupamentos hidroxilas, éteres e 1 grupamento éster. Nos espectros obtidos (Figura 3b) foi possível determinar 6 regiões como características inerentes da IVC, inicialmente podem-se observar os sinais: em 3500 cm^{-1} , referente a deformação axial de O-H; $2964,99$ e $2937,33\text{ cm}^{-1}$ são característicos de grupamentos metila, deformação axial de C-H; $1728,92\text{ cm}^{-1}$ é característico de cetona alifática saturada; $1675,79\text{ cm}^{-1}$ indicando lactonas insaturadas com ligação dupla adjacente ao grupo -O-, devido ao grupo C=C; entre $1383,87$ e $1313,84\text{ cm}^{-1}$ mostram absorção

moderada de cetonas, em consequência das vibrações axial e angular; 1198,96 e 1182,48 cm^{-1} indicam absorção de ésteres em lactonas; entre 1142,13 e 1021,91 cm^{-1} aferiu-se a absorção mais característica de éteres alifáticos, sendo devido à deformação axial assimétrica de -C-O-C-; 982,11 e 970,57 cm^{-1} as duas bandas de deformação angular simétrica fora do plano de =C-H do alquenos terminais; 950,78 e 929,74 cm^{-1} apresenta-se deformação angular fora do plano de -O-H; 904,25 a 832,48 cm^{-1} essas bandas intensas na região de baixa frequência provém da deformação angular fora do plano das ligações de -C-H do anel; 807,96 a 706,11 cm^{-1} indicam deformação angular fora do plano de -C-H; e 686,98 e 661,13 cm^{-1} demonstram deformação angular fora do plano de -C=C- dos anéis.

Figura. 3 - Espectro de MS (a) e de absorção no infravermelho da IVC (b).



No espectro de massas da IVC obtido por electrospry (ESI) em modo “full scan”, são observados dois sinais com m/z 897 e 913 com diferença de massa de 16 daltons. Essa diferença pode ser associada a presença de adutos de sódio e potássio que complexados a IVC geram os íons quasimoleculares $[M + Na]^+$ m/z 897 e $[M + K]^+$ m/z 913.

Estudo de solubilidade e teor (CLAE - DAD)

A IVC é obtida a partir de biossíntese de microorganismos como o *S. avermectinius*, que sintetizam não só a ivermectina como outras avermectinas, portanto, a matéria prima farmacêutica passa por uma série de etapas de purificação/recristalização em que a especificação de pureza para ser utilizado como matéria prima farmacêutica é não menos que 80% da H₂B_{1a} e não mais que 20% da H₂B_{1b} calculado para amostra anidra, livre de etanol e de dimetilformamida (ÔMURA, 2008; SHI et al., 2001).

O resultado da análise de teor médio por CLAE-DAD da matéria prima de trabalho foi 93% ± 0,9 % de H₂B_{1a} em relação ao padrão, encontrando-se adequada para o uso de acordo com compêndios oficiais (USP, 2011; British Pharmacopeia, 2009).

A absorção de fármacos, a partir de formas farmacêuticas sólidas administradas por via oral, depende de sua liberação e dissolução nas condições fisiológicas e da permeabilidade nas membranas biológicas. Com base nestas considerações, pode-se afirmar que a dissolução do fármaco em meio aquoso, é uma etapa limitante. O resultado do estudo de solubilidade da IVC evidenciou a baixa solubilidade em água da IVC (tabela 1), confirmando os resultados já descritos na literatura (USP, 2011).

Tabela. 1- Resultado do estudo de solubilidade semi-quantitativo da IVC.

Solvente	Volume de solubilização	Classificação	Termo descritivo
Acetato de etila	10 mL	Facilmente solúvel	De 1 a 10 partes
Acetona	30 mL	Solúvel	De 10 a 30 partes
Acetonitrila		Pouco solúvel	
Água	100 – 1000 mL	Praticamente insolúvel	De 100 a 1000 partes
Álcool etílico	>10000 mL	Ligeiramente solúvel	>10000 partes
		Solúvel	

Álcool metílico	30 – 70 mL	Facilmente solúvel	De 30 a 100 partes
Diclorometano	30 mL	Solúvel Praticamente insolúvel	De 10 a 30 partes
Éter etílico	10 mL	Praticamente insolúvel	De 1 a 10 partes
H ₂ O ₂ 3%	30 mL	Praticamente insolúvel	De 10 a 30 partes
HCl 0,2M	>10000 mL	Muito pouco solúvel	>10000 partes
NaOH 0,2M	>10000 mL		>10000 partes
N-Hexano	>10000 mL		>10000 partes
	1000 – 10000 mL		De 1000 a 10000 partes

Para uma avaliação mais detalhada, a avaliação da solubilidade em sistemas aquosos foi determinada quantitativamente por CLAE-DAD, os resultados estão descritos na tabela 2.

Tabela. 2 - Determinação da solubilidade quali-quantitativa em sistemas aquosos.

Amostra	Tempo	Teor (µg/mL)
H ₂ O	168 horas	----
H ₂ O + LSS 1%	72 horas	10,43
pH 1,2	72 horas	819,41
pH 1,2 + LSS 1%	72 horas	61,86
pH 4,0	72 horas	11.403,30
pH 4,0 + LSS 1%	72 horas	259,01
pH 6,8	72 horas	21.747,73
pH 6,8 + LSS 1%	72 horas	23,756,06

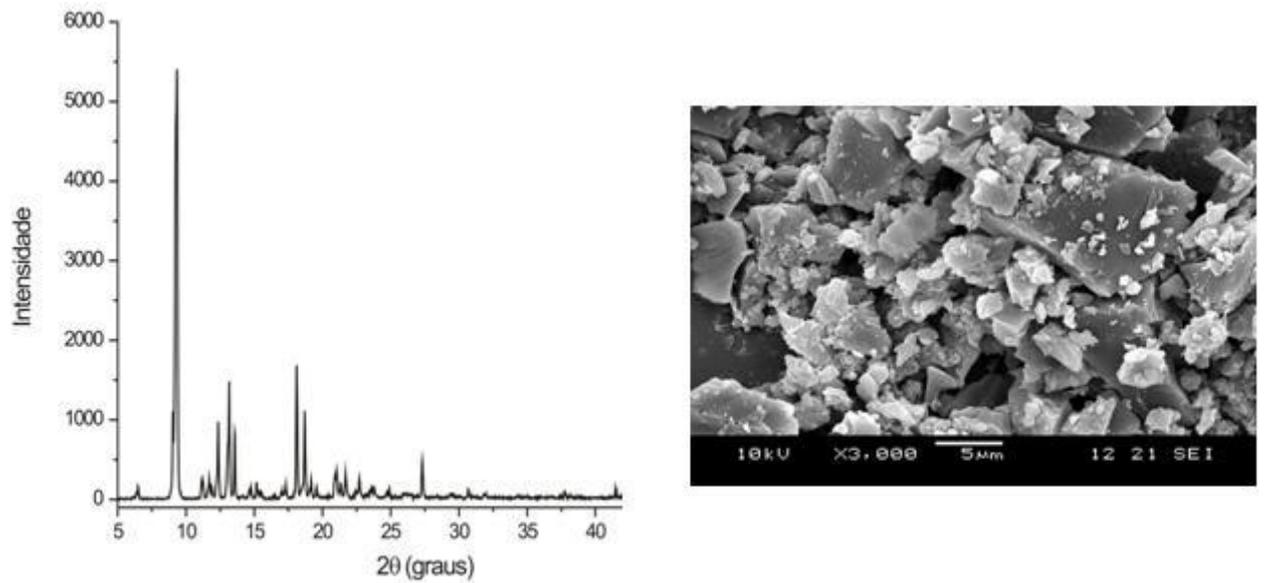
Com base nos resultados obtidos pode-se inferir que a solubilidade aquosa da IVC encontra-se abaixo do limite de quantificação do método ($LQ = 6,58 \mu\text{g/mL}$), calculado a partir da curva de linearidade do padrão ($y = 3568,51 \cdot x - 30518,48$), o que corrobora com o encontrado na literatura que é de $4 \mu\text{g/mL}$ (Merck Index, 2006), as demais amostras foram analisadas no tempo de 72h, pois os meios utilizados já estavam saturados neste tempo.

Determinação das características físicas e particulares

A difração de Raios-X é uma técnica de grande versatilidade e rapidez na aplicação de amostras policristalinas, tais como o monitoramento de amostras no desenvolvimento de produtos farmacêuticos em laboratório e no controle de qualidade industrial, fornecendo informações sobre tamanho e estrutura dos cristais. Esta técnica é baseada no princípio de que quando um material é irradiado por raios X monocromáticos, para um cristal perfeitamente alinhado, no qual os átomos são empacotados regularmente e a distância entre os planos cristalográficos é definida pelas características físicas da amostra, a qual pode ser usada para medir com precisão os espaçamentos do retículo cristalino.

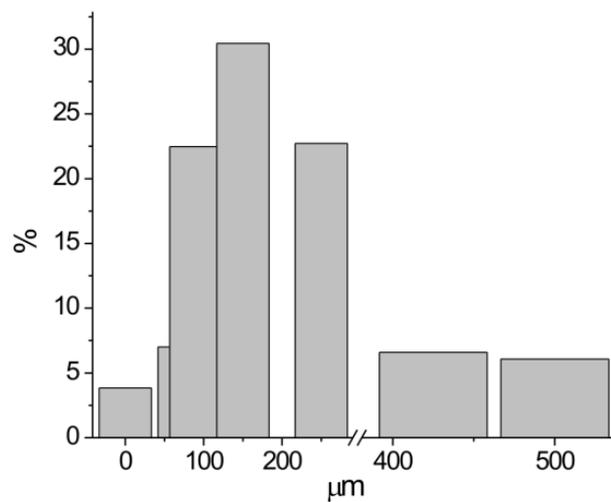
Neste ensaio foi estabelecido o padrão de difração do pó da IVC revelando ou a presença de uma série de picos, podendo ser observado a presença de um pico distinto a 2θ em torno de $9,32^\circ$, além de outros secundários de menor intensidade em $9,04^\circ$, $12,36^\circ$, $13,16^\circ$, $13,56^\circ$, $18,12^\circ$, $18,7^\circ$ e $27,32^\circ$ (Figura 4), evidenciando o comportamento tipicamente cristalino do fármaco que possui influência relevante na sua solubilização e fluidez.

Figura. 4 - Difratoograma e eletromicrografia das partículas cristalinas de IVC.



A partir da distribuição granulométrica realizada (Figura 5) pode-se observar que matéria prima utilizada para o estudo possui uma prevalência de suas partículas distribuídas no intervalo entre 90 e 250 μm .

Figura. 5 - Distribuição de frequência do tamanho das partículas de IVC.



Diante desses resultados, realizou-se uma avaliação da retenção em relação à passagem das partículas nos intervalos avaliados. Nessa avaliação obteve-se que o tamanho médio das partículas é de aproximadamente 198 μm . Portanto, de acordo com a Farmacopéia Brasileira (2010), podemos classificar a matéria prima utilizada como um pó semifino. Esse conhecimento se faz de extrema importância, visto que a velocidade de dissolução é diretamente proporcional à área superficial das partículas, e como a dissolução é um fator crítico para esse fármaco, a determinação do tamanho e morfologia das partículas da IVC permite correlacionar esses fatores.

As propriedades físico-mecânicas de compactação e reologia da IVC foram realizadas, sendo os resultados apresentados na Tabela 3.

Tabela. 3 - Resultados das propriedades de compactação da amostra analisada

Parâmetros	Valores obtidos
dap (g/mL)	0,67
dcp (g/mL)	0,74
IH	1,10
IC	10,44

De acordo com os dados apresentados, observou-se a baixa densidade do IVC, conforme relatado na literatura. Porém, o Índice de Carr exprimiui de forma percentual a capacidade de compactação do pó analisado, onde valores de até 10 % são considerados de excelente fluxo e compactação, conforme observado na IVC. Adicionalmente, o Índice de Hausner, similar ao IC, indicam que valores entre 1,00 e 1,11 apresentam um excelente fluxo e não exigem a adição de lubrificantes para melhorar o escoamento, enquanto que valores superiores indicam fluxo ruim.

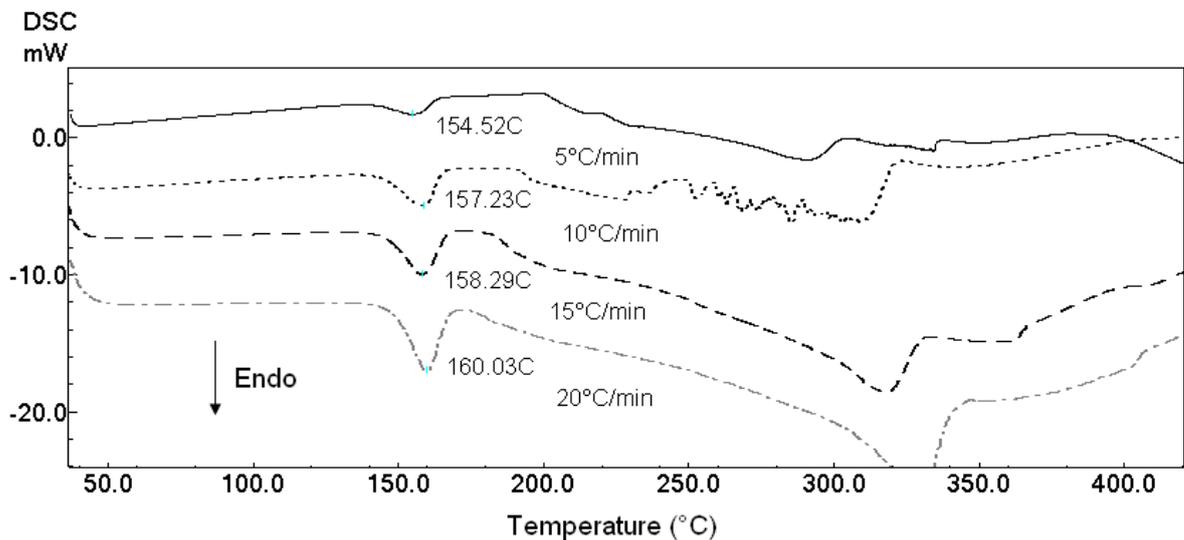
Paralelamente, através da determinação do ângulo de repouso observou-se que a IVC flui livremente, possuindo tempo de 2 ± 1 segundo. Este comportamento diverge do esperado devido a morfologia cristalina das partículas (Figura 6) que favorece interações entre as

partículas. Portanto, o processamento do fármaco pode ser realizado por compressão direta já que apesar das características cristalinas da IVC, a mesma apresenta um bom fluxo e boas características de compressibilidade.

Caracterização térmica da IVC

Através das curvas de DSC realizadas para a verificação da faixa de fusão da IVC (Figura 6) nas razões de aquecimento de 5, 10, 15 e 20°C.min⁻¹, pode-se evidenciar um pico endotérmico na faixa de temperatura entre 152,96 e 164,2°C (média), característico do processo de fusão do fármaco, porém o pico de fusão possui valores diferentes quando analisado em diferentes razões, sendo antecipado quanto menor a razão de aquecimento utilizada. De acordo com o Merck Index (1999) a faixa de fusão da IVC é de 155-157°C, portanto, a razão de aquecimento mais apropriada para avaliação térmica da IVC é 10°C/min que permite a determinação de ponto de fusão de 157,4 ± 0,7 °C.

Figura. 6 - Curvas de DSC para definição da razão de aquecimento da IVC.



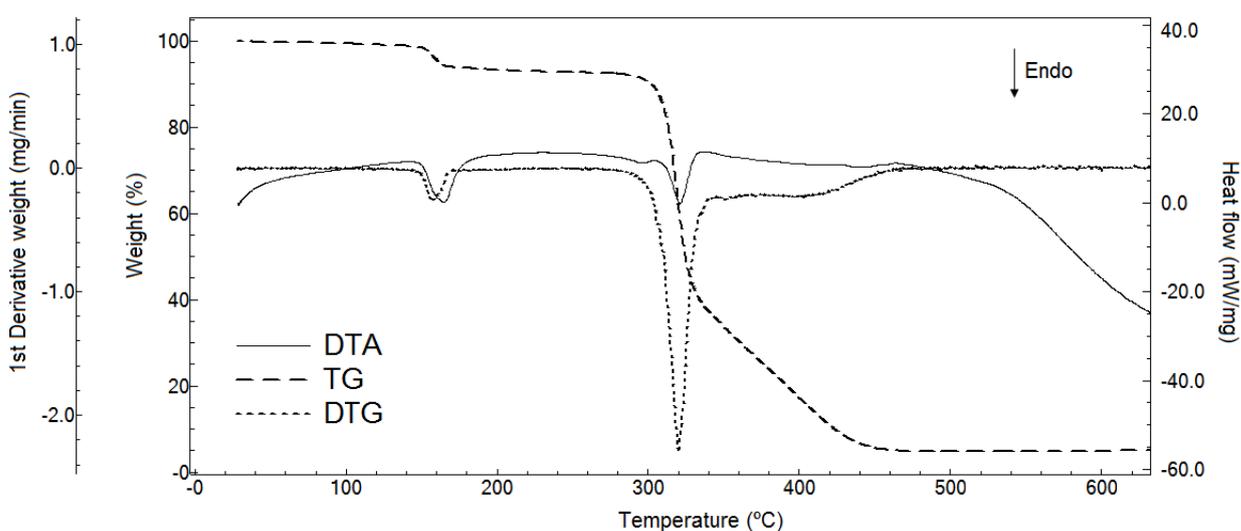
Adicionalmente, a pureza da IVC foi calculada através da aplicação da equação de Van't Hoff na linearização do evento de fusão com análise obtida a razão de 0,5°C/min, verificado em triplicata (em adição há análise realizada por CLAE-DAD, item descrito

anteriormente). Neste modelo a pureza é determinada através do desvio da linearidade do evento de fusão, o qual ocorre pela presença de impurezas. Conhecendo-se o desvio da linearidade, pode-se inferir sobre o fator de correção na linearização da reta. Logo, a pureza da IVC mostrou-se em torno de 98,4 %, com um fator de correção calculado para as impurezas de 8,36 %, dado discrepante do teor encontrado por CLAE-DAD, sendo esta técnica inadequada para determinação de pureza da IVC, provavelmente devido a entalpia envolvida no processo estar relacionada não só a fusão do fármaco, como também, a evaporação de solventes residuais, evento a ser discutido.

As curvas TG forneceram informações sobre a composição e estabilidade térmica da IVC, dessa forma, foi possível determinar a temperatura inicial de decomposição da matéria prima, bem como as etapas de degradação da IVC acompanhando possíveis reações de desidratação, oxidação, combustão, decomposição.

A partir da avaliação das curvas de TG do fármaco MP e padrão analítico, observou-se que a IVC apresenta três eventos térmicos característicos, a primeira perda de massa ocorre durante a fusão do fármaco entre 153 a 164°C ($\Delta m = 5,04 \%$), o segundo estágio de decomposição entre 312 a 327°C ($\Delta m = 58,54 \%$), seguido da terceira e última degradação entre 341 a 427°C ($\Delta m = 29,35\%$) referente a carbonização da IVC (Figura 7), eventos determinado pela primeira derivada do TG.

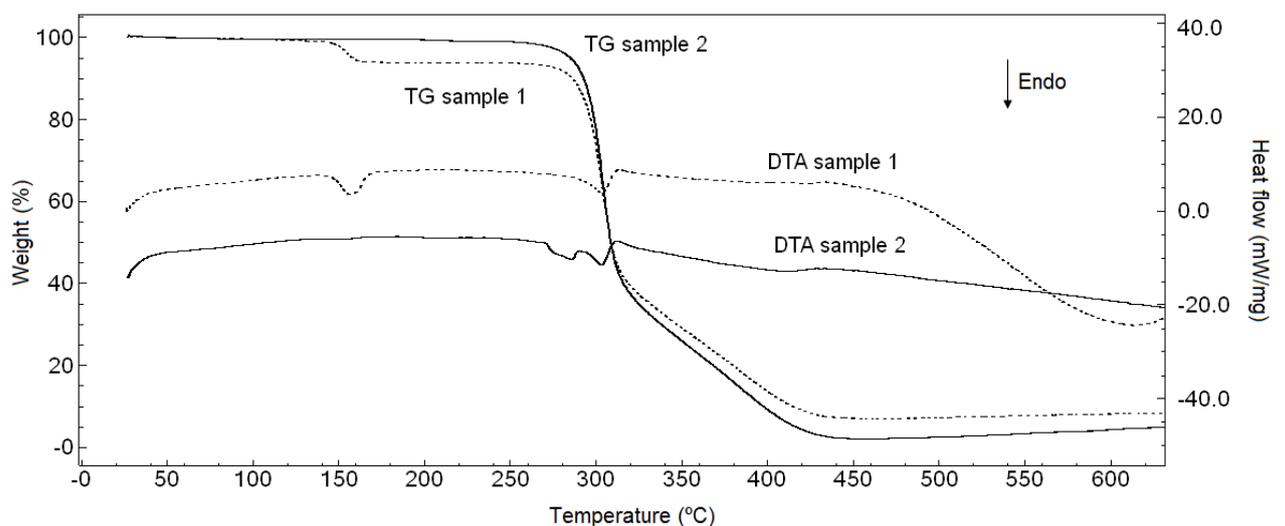
Figura. 7 - Curva TG obtida a 10°C.min-1 sob atmosfera de N2 com fluxo de 50 mL.min-1.



A matéria prima de IVC possui em sua rede cristalina a presença de formamida e etanol, solventes utilizados para purificação/recristalização da mistura de avermectinas produzidas pela biossíntese dos microorganismos. De acordo com as especificações contidas em compêndios oficiais a análise desses solventes residuais deve ser por cromatografia gasosa (CG) com no máximo 5% de etanol e 3% de dimetilformamida (USP, 2011). Porém, pode-se observar que a análise por TG também é capaz de quantificar o teor de solventes residuais totais, correspondendo a majoritariamente o primeiro evento de perda de massa sofrida pela matéria prima da IVC.

Para comprovação que o primeiro evento de perda de massa da IVC não corresponde a uma degradação propriamente dita, e sim a uma dessolvatação de etanol e dimetilformamida foi realizada uma análise de TG com uma amostra sem pré-aquecimento (amostra 1) e uma segunda amostra de IVC pré-aquecida até a temperatura de fusão, com posterior resfriamento e re-aquecimento até 600°C da amostra (amostra 2), curvas ilustradas na figura 8.

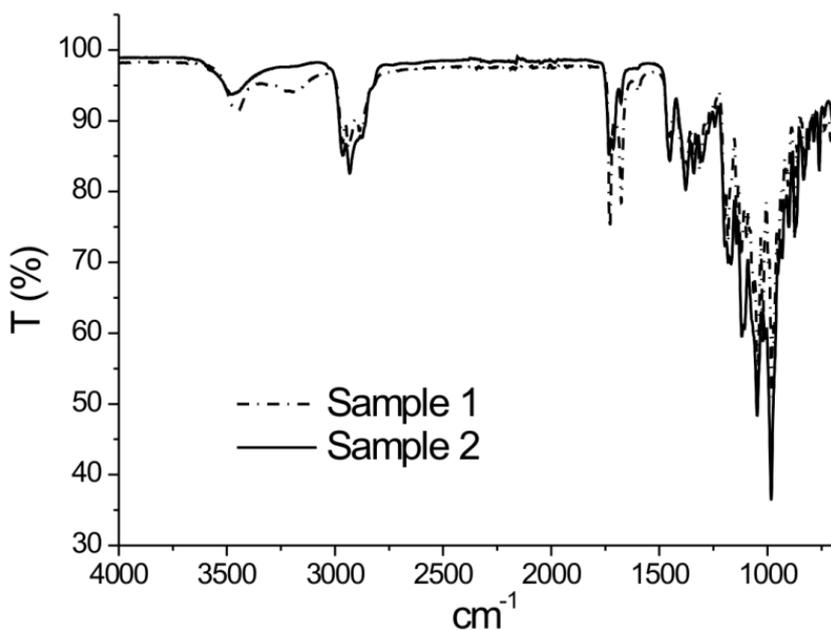
Figura. 8 - Curvas TG de IVC sem pré-aquecimento (sample 1) e com pré-aquecimento a 157°C (sample 2) em atmosfera de N₂ a 50mL.min-1.



A análise das curvas TG obtida permite indicar que no primeiro aquecimento os solventes residuais evaporam ($T_{\text{ebulição}} \text{ etanol} = 78.4 \text{ }^\circ\text{C}$ e $T_{\text{ebulição}} \text{ dimetilformamida} = 153^\circ\text{C}$, descritas no Merck Index, 2006), visto que o decaimento calculado até o ponto de fusão da IVC (157°C), que coincide, aproximadamente, com a temperatura de ebulição da dimetilformamida, corresponde a 6,5% em média, valor semelhante ao calculado por CG para o padrão analítico (soma dos dados fornecidos pela Sigma Aldrich[®] referentes ao quantitativo de dimetilformamida e etanol no lote utilizado nesse trabalho) somado ao teor de água por Karl Fisher (Farmacopéia Brasileira, 2010).

Como análise adicional foi realizado a análise de IV-TF da amostra pré-aquecida até a temperatura de fusão da IVC (amostra 1) e amostra sem pré-tratamento (amostra 2) ilustrado na figura 9, demonstrando a permanência das bandas características da IVC mesmo após o aquecimento, não evidenciando sinais de degradação do fármaco. Caracterizando, assim, a análise de TG da IVC como técnica auxiliar na determinação de solventes residuais da purificação/recristalização deste fármaco.

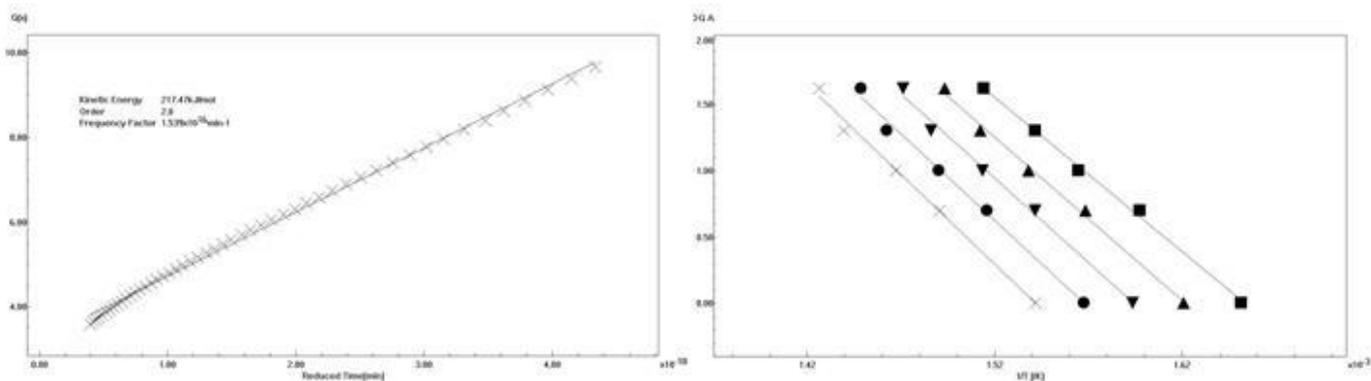
Figura. 9 - Espectro de IV-TF de amostras de IVC sem pré-aquecimento (sample 1) e com pré-aquecimento a 157°C (sample 2).



Em decorrência do primeiro evento de perda de massa da curva TG não representar um evento de decomposição, a análise da cinética não-isotérmica da IVC foi realizada avaliando apenas o segundo evento de perda de massa (310-330°C) (ALVES et al., 2010).

Nessas análises as curvas de TG são deslocadas para temperaturas mais elevadas a medida que a razão de aquecimento aumenta (2,5, 5, 10, 20 e 40°C/min), o permite a aplicação do método de Ozawa, pela boa correlação entre as cinco razões de aquecimento e, por essa decomposição térmica a E_a calculada foi de 217,47 kJ.mol⁻¹, com reação de degradação de 2^a ordem e fator de frequência de colisões entre as moléculas de IVC de 1539 x 1016 min⁻¹ Figura.

Figura. 10 - Curvas TG e o gráfico de Ozawa da IVC obtido em cinco razões de aquecimento sob atmosfera dinâmica de nitrogênio no método não-isotérmico.



Estudo de Compatibilidade Fármaco-Excipiente

O comportamento das misturas binárias mostraram que com todos os excipientes houve diminuição significativa da entalpia envolvida no processo fusão, quando comparado à entalpia de fusão do fármaco isolado, bem como pequenas mudanças na forma do pico com poucas variações da temperatura de fusão, indicando ausências de incompatibilidade na maioria dos casos. Os dados das curvas de TG e DSC obtidos no estudo de compatibilidade estão demonstrados na Tabela 4.

Tabela. 4 - Resultados das propriedades de compactação da amostra analisada.

Amostra	T _{onset} /°C	T _{fusão} /°C	ΔH (J.g ⁻¹)	T _{onset} decomposição	% decomposição
IVC	144,04	159,42	-134,58	305,29	-53,59
IVC + PVP K-30	149,54	160,01	-36,24	307,49	-27,62
IVC + Talco	144,12	157,8	-152,8	307,06	-50,02
IVC + CMC	147,18	159,53	-33,18	310,12	-34,59
IVC + Starch [®]	145,47	161,28	-33,92	297,83	-63,88
Amostra	T _{onset} /°C	T _{fusão} /°C	ΔH (J.g ⁻¹)	T _{onset} decomposição	% decomposição
IVC + Tabletose [®]	142,9	149,9	-129,33	292,77	-59,6
IVC + Croscarm.	144,57	156,57	-26,37	305,69	-51,92
IVC + Flowlac [®]	141,27	149,35	-137,44	284,99	-50,74
IVC + Starlac [®]	144,98	150,91	-99,4	293,66	-60,69
IVC + Glicolato	144,06	156,5	-35,45	306,3	-52,4
IVC + Aerosil [®]	147,9	162,63	-59,58	308,36	-27,36

Nas curvas DSC das misturas binária de IVC com excipientes de lactose (Tabletose[®] e Flowlac[®]), houve uma diminuição da temperatura de fusão de 1 a 3°C do início da temperatura de fusão, o que pode ser indicativo de ocorrência de interação fármaco-excipiente. Adicionalmente, a temperatura de inicial de degradação (2º evento de perda de massa) antecipou em mais de 10°C nas MB com lactose e amido (Starch[®], Tabletose[®], Flowlac[®] e Starlac[®]), de acordo com as curvas TG/DTG.

Portanto a Tabletose[®] foi selecionada como representante dos excipientes contendo lactose e Starch[®], contendo amido, em foram avaliadas a cinéticas não-isotérmicas nas razões de 10, 20 e 40°C/min para a IVC matéria prima e as MBs contendo estes excipientes.

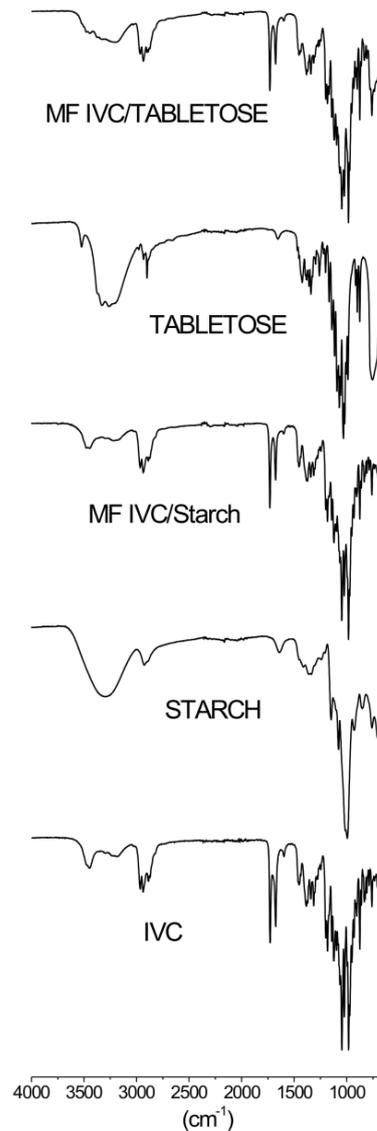
Tabela. 5 - Dados termoanalíticos da IVC e das MBs com excipientes.

Amostra	Energia de Ativação (E_a)	Fator de Frequencia (A)
IVC	216,03 KJ/mol	1,620 x 10 ¹⁶ min ⁻¹
IVC/Tabletose [®]	180,21 KJ/mol	2,985 x 10 ¹³ min ⁻¹
IVC/Starch [®]	200,44 KJ/mol	7,632 x 10 ¹⁴ min ⁻¹

A energia de ativação da mistura binária IVC/ Tabletose[®] apresentou decaimento de mais de 15% em relação a IVC isolada, enquanto que a mistura IVC/Starch[®] apresentou decaimento de cerca de 7% na energia de ativação corroborando com os resultados da análise térmica, os quais evidenciaram sinais de interação.

Os espectros de absorção no IV da IVC e das MB com os excipientes selecionados estão representados na Figura 11. Em todos os espectros observa-se apenas sobreposição das bandas características da IVC isoladamente e dos excipientes, sendo algumas delas sobrepostas por bandas referentes aos excipientes, porém a simples sobreposição não pode ser considerada uma incompatibilidade, portanto a técnica de IV-TF não foi seletiva para evidenciar possíveis incompatibilidades entre a IVC e os excipientes avaliados.

Figura. 11 - Espectro de IV-TF da IVC, Tabletose®, Starch®, mistura binária IVC/ Tabletose®, mistura binária IVC/ Starch®.



CONCLUSÃO

Os resultados obtidos através da caracterização realizada foram de fundamental importância, pois permitiram a determinação das principais características físico-químicas da IVC, fornecendo informações relevantes em relação à qualidade da matéria prima utilizada,

assim como de seu comportamento frente a diferentes técnicas frequentemente utilizadas na caracterização de produtos farmacêuticos, que vem sendo desenvolvidas para esse fármaco, buscando superar essa característica, que se constituía como uma barreira tecnológica e terapêutica da IVC, anti-helmíntico utilizado no combate a filariose.

REFERÊNCIAS

ALVES, R.; REIS, T. V. S.; SILVA, L. C. C.; STORPÍRTIS, S.; MERCURI, L. P.; MATOS, J. R. Thermal behavior and decomposition kinetics of rifampicin polymorphs under isothermal and non-isothermal conditions. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 46, n. 2, p. 343-351, 2010.

CAMPBELL, W. C.; BENZ, G. W. Ivermectin: a review of efficacy and safety. *Journal of veterinary Pharmacology and Therapeutics*. v. 7, n. 1, p. 1-16, 1984.

CERKVENIK, V.; DOGANOC, D.Z.; SKUBIC, V.; BEEK, W.M.J.; KEUKENS, H.J. Thermal and long-term freezing stability of ivermectin residues in sheep milk. *European Food Research Technology*, v. 213, p. 72-76, 2001.

LEHNER, A. F.; PETZINGER, E.; STEWART, J.; LANG, D. G.; JOHNSON, M. B.; HARRISON, L.; SEANOR, J. W.; TOBIN T. ESI⁺ MS/MS confirmation of canine ivermectin toxicity. *Journal of Mass Spectrometry*, n. 44, p. 111-119, 2009. DOI: 10.1002/jms.1477.

ÕMURA, S. Ivermectin: 25 years and still going strong. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v. 31, p. 91-98, 2008.

Farmacopéia Brasileira, Métodos Gerais, 5ª ed., Atheneu: São Paulo, 2011.

SANTOS, F.C. *Estudo de Pré-formulação da Ivermectina: Caracterização e Estabilidade do Fármaco*, 2013.

SHI, Q.; HILL, C.; HILL, J.A. 2001. Purification process of anti-parasitic fermentation product. United States Patent (Patent nº 6,265,571 B1).

XU, X.; KHAN, M.A.; BURGESS, D.J. A quality by design (QbD) case study on liposomes containing hydrophilic API: I. Formulation, processing design and risk assessment. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 419, p. 52–59, 2011.

WU, H., KHAN, M., HUSSAIN, A.S., Process control perspective for process analytical technology: integration of chemical engineering practice into semiconductor and pharmaceutical industries. *Chem. Eng. Commun.* v. 194, p. 760–779, 2007.

YU, L.X., Pharmaceutical quality by design: product and process development, understanding, and control. *Pharmaceutical Research*, v. 25, p. 781–791, 2008.

[USP](#), United States Pharmacopeia, Veterinary Drugs, 31th Edition, [2011](#).

CAPÍTULO III

DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO INDICATIVO DE ESTABILIDADE PARA A IVERMECTINA POR CLAE-DAD

Artigo a ser submetido

5 CAPÍTULO III

Artigo 2 – ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DO ANTIPARASITÁRIO IVERMECTINA EM SOLUÇÃO POR CLAE-DAD

RESUMO

A ivermectina (IVC) é um derivado de avermectina com ação contra helmintos, aracnídeos e insetos, amplamente utilizada nas terapias em humanos e na medicina veterinária, porém, não há relatos na literatura a cerca de seus produtos de degradação (PDs) e mecanismos degradativos. Portanto, este trabalho teve como objetivo desenvolver um método analítico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, acoplado a detector de arranjo diodo, capaz de quantificar a IVC na presença de seus PDs, já que, não foi possível quantificar os PDs devido a co-eluição deles no método desenvolvido. A partir do desenvolvimento do método analítico selecionou as melhores condições degradativas para a IVC (decaimento de teor entre 10 e 30 %) sob variação de pH (HCl 0,1M e NaOH 0,01M), condições oxidativas (H₂O₂ 6%) e fotolíticas, além de demonstrar que o fármaco é termoestável na temperatura de 50°C por 24h. Não foi possível calcular as cinéticas de degradação da IVC sob condições hidrolíticas, devido ao período de tempo avaliado, mas, como houve decaimento expressivo da IVC quando submetida a fotodegradação pode-se calcular a cinética de primeira ordem para esta condição. Comprimidos de IVC e uma formulação líquida (solução oral manipulada) foram submetidos a estudos de estabilidade acelerada por 3 meses e apresentaram decaimento significativo com o aparecimento de PDs, sem a possibilidade de quantificação relativa devido a co-eluição dos PDs da IVC no método desenvolvido.

Palavras-chave: Ivermectina, degradação, hidrólise; oxidação; cinética química.

ABSTRACT

Ivermectin (IVC) is a derivative of avermectin suit against helminths, arachnids and insects, widely used in therapies for human and veterinary medicine, but there are no reports in the literature about its degradation products (DPs) and degradative mechanisms. Therefore, this study aimed to develop an analytical method by High Performance Liquid Chromatography coupled to diode array detector, able to quantify the IVC in the presence of their DPs, since it was not possible to quantify the DPs due to co-elution the method developed them. From the development of the best analytical method selected degradative conditions for the IVC (decay content of between 10 and 30%) under varying pH (HCl 0.1 M and NaOH 0.01 M), oxidative conditions (H₂O₂ 6%) and photolytic, and demonstrate that the drug is thermostable at 50 °C for 24h. It was not possible to calculate the degradation kinetics of IVC under hydrolytic conditions due to the time period measured, but since there was a significant decay of the IVC when subjected to photodegradation can calculate the first order kinetics for this condition. Tablets IVC and a liquid formulation (oral solution manipulated) were subjected to accelerated stability studies for 3 months and showed significant decay with the appearance of PDs, without the possibility of relative quantification due to the co-elution of DPs in the method developed.

Keywords: Decomposition products, ivermectin, hydrolysis, oxidation and chemical kinetics.

INTRODUÇÃO

O número de trabalhos existentes na literatura a respeito da estabilidade da ivermectina é bastante reduzido, tanto quanto se trata da molécula isoladamente ou mesmo presente em formulações (medicamentos de uso humano ou veterinário) (ÔMURA, 2008).

A ivermectina (22,23-dihidroavermectina B1a + 22,23-dihidroavermectina B1b) e utilizada como princípio ativo com ampla ação medicamentosa com aplicação em tratamento de sarnas, vermes e piolhos. E derivada da bactéria *Streptomyces avermitili* e atua no sistema nervoso e função muscular, resultando em paralisia e morte (CULLY et al., 1994; DENT et al., 1997). A ivermectina (IVC) apresenta baixa toxicidade quando em formulações, porém, pode ser enquadrado como altamente tóxico quando puro, devido a atuação direta no sistema nervoso central quando inalado ([HTTP://extoxnet.orst.edu/pips/abamecti.htm](http://extoxnet.orst.edu/pips/abamecti.htm)).

Paralelamente, o número de métodos de análise de formulações contendo IVC e suas impurezas / produtos de degradação, é também bastante reduzido. As metodologias constantes em farmacopeias (British Pharmacopeia, 2007), servem como base para o desenvolvimento de métodos, porém não abrangem a detecção de produtos de degradação, provenientes de estudos de estabilidade.

O presente trabalho tem como objetivo desenvolver uma metodologia analítica e seletiva para produtos de degradação, desenvolvida utilizando-se amostras degradadas sob condições de estabilidade forçada (hidrólise ácida, hidrólise alcalina, luz, calor e oxidação), bem como, avaliar os percentuais de degradação em função do tempo e a presença destes produtos de degradação em formulações comerciais após estudo de estabilidade acelerado.

PARTE EXPERIMENTAL

Substâncias e Reagentes

Foram utilizados dois lotes de Ivermectina, um lote de matéria prima cedido pelo Laboratório Veterinário Vale[®] (Lote: 07016/2010, fabricado na China), e o padrão de Ivermectina adquirido a Sigma Aldrich[®], lote: 70288-86-7 (pureza: 95% H₁B_{1a} + 2% de H₁B_{1b}).

Os solventes utilizados foram acetonitrila (Carlo Erba[®]), água ultra pura (obtida em sistema MILI Q), ácido clorídrico 36,5 %, v/v (Dinâmica[®]), hidróxido de sódio (Vetec[®]),

peróxido de hidrogênio 36,5 %, v/v (Dinâmica[®]). Para a preparação da fase móvel, foi utilizado fostato de potássio dibásico (Sinth[®]) e ácido fosfórico (Dinâmica[®]).

Equipamentos

Para quantificação da IVC e amostras degradadas, o método analítico utilizado foi desenvolvido e validado por CLAE – DAD, em equipamento Shimadzu[®] equipado com um sistema quaternário de bombas modelo LC - 20ADVP, degaseificador modelo DGU - 20A, detector PDA modelo SPD - 20AVP, forno modelo CTO - 20ASVP, injetor automático modelo SIL - 20ADVP e controlador modelo SCL - 20AVP, sendo os dados tratados através do software Shimadzu[®] LC solution 1.0.

Estudo de degradação forçada

Os estudos de degradação hidrolítica foram conduzidos com a matéria prima da IVC em solução H₂O:ACN (80:20) a 200 µg/mL, utilizando soluções de HCl 0,01, 0,1 e 1M, para hidrólise ácida; NaOH 0,01, 0,1 e 1M, para à básica; solução de peróxido de hidrogênio a 3, 6 e 9%, para a oxidativa e água ultra pura em câmara de fotoestabilidade Nova Ética[®] (modelo C242), que consiste na associação de lâmpadas UV e fluorescente com emissão de 30.000 lux e 13,33 w/m² por hora, para a fotolítica, à temperatura ambiente. Os estudos hidrolíticos da IVC foram realizados sem o aquecimento das amostras estressadas, para avaliação das condições de degradação isoladas, sem a presença de nenhum agente catalisador, exceto, a hidrólise neutra em que a solução de IVC foi submetida a 60°C em água ultra pura, devido a baixa velocidade de reação. Para determinação do teor de IVC em cada degradação foram retiradas alíquotas das reações em 24 horas (SINGH, BAKSHI, 2000; YOSHIOKA, STELLA, 2002).

Condições Cromatográficas

As amostras e o padrão de trabalho de IVC foram obtidos a partir de uma diluição inicial de 20 mg de IVC matéria prima em 50 mL de acetonitrila, com 5 min de agitação por

sonicação, em balão volumétrico de 200 mL aferido com acetonitrila. Obtendo-se a concentração final de 200 µg/mL, com posteriores diluições volumétricas utilizando o sistema de solventes H₂O:ACN (80:20), para obtenção da curva de calibração com as concentrações de 50, 100 e 150 µg/mL, sendo a concentração de trabalho de 100 µg/mL.

Para o doseamento das amostras degradadas de IVC utilizou-se inicialmente o método descrito na literatura na farmacopéia britânica (2009) que consiste em utilizar coluna C18 (250 x 4,6 mm e 5µm) e fase móvel de água: metanol: acetonitrila (15:34: 51, v/v/v) a 1 mL.min⁻¹ com volume de injeção de 20 µL (245 nm), para doseamento do fármaco IVC e suas substâncias relacionadas (British Pharmacopoeia, 2009). Porém o método não demonstrou seletivo, pois o pico cromatográfico da IVC não estava puro (análise realizada por DAD acoplado a software Shimadzu LCsolution 1.0), portanto, as soluções obtidas foram submetidas a análise seguindo os parâmetros descritos por Cione & Silva, 2007-2008, que consiste na utilização de uma coluna C18 (5 µm) a 25°C, como fase estacionária, uma solução metanol:acetonitrila:ácido acético a 0,2% (260:640:100 mL v/v), como fase móvel, com fluxo de 1,5 mL.min⁻¹ a 254 nm. Após algumas análises o método foi otimizado, modificando-se a composição e o fluxo da fase móvel para: metanol:acetonitrila:ácido fosfórico pH 3 (260:640:100 mL v/v), como fase móvel, com fluxo de 1 mL.min⁻¹ a 245 nm.

Cinéticas de degradação

A ordem de reação para as cinéticas de hidrólise da IVC foram determinadas representando o percentual de fármaco residual em função do tempo (ordem zero), do logaritmo neperiano do percentual de fármaco em função do tempo (primeira ordem) e inverso do percentual de fármaco em função do tempo (segunda ordem). Os coeficientes de regressão linear foram obtidos, sendo o coeficiente mais próximo da unidade indicador da ordem das degradações da IVC (SINKO, 2008).

O modelo cinético pode ser representado pelas seguintes equações:

$$\begin{array}{lll}
 C = C_0 - k.t & t_{90\%} = (0,1 \times C_0) / k & \text{(Ordem zero)} \\
 \ln C = \ln C_0 - k.t & t_{90\%} = 0,16 / k & \text{(Primeira ordem)} \\
 1 / C = 1 / C_0 + k.t & t_{90\%} = 1 / (9k \times C_0) & \text{(Segunda ordem)}
 \end{array}$$

Onde C_0 é a concentração dos reagentes no tempo zero, C é a concentração após reação n tempo t e k , a constante de reação (SINKO, 2008).

Avaliação do teor de produtos de degradação em formas farmacêuticas

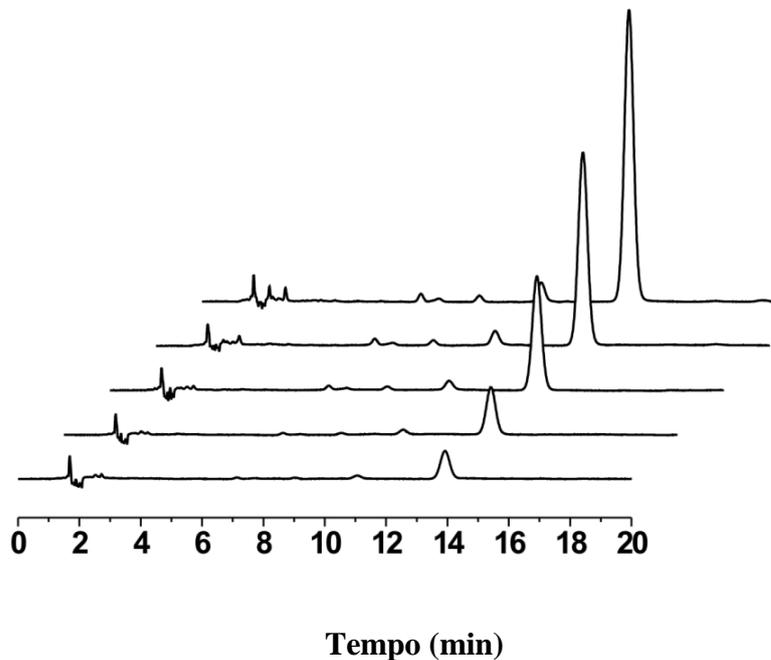
A fim de cumprir o que estabelece o ICH e ANVISA, foi analisado o teor dos produtos de degradação no produto referência brasileiro (Revectina[®], SolvayFarma indústria farmacêutica) em forma farmacêutica comprimidos de IVC de 6 mg (lote n^o 1045130) e em forma farmacêutica líquida obida em escala de bancada (solução oral de IVC constituída de: IVC (0,12%), propilenoglicol (20%), polissorbato 80 (1%), fosfato de sódio dibásico anidro (0,13%), fosfato de sódio monobásico anidro (0,78%), butilhidroxitolueno (0,1%), EDTA (0,01%), metilparabeno (0,1%), propilparabeno (0,05%), álcool etílico (q.s.), sacarina sódica (0,05%), flavorizante (0,3%) adaptada de FERREIRA, SOUZA, 2011) após estudo de estabilidade no modelo acelerado (45°C ± 2°C / 75% UR ± 5%, em 0 e 3 meses), a fim de avaliar a necessidade de notificá-los ou identificá-los e qualificá-los de acordo com a dose diária administrada de IVC (ICH, 2002; ICH, 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente foi realizada a análise da IVC isoladamente para determinação das curvas de calibração, bem como, de contaminantes e impurezas da matéria prima. O método demonstrou um perfil cromatográfico satisfatório para IVC, já que é possível identificar no

cromatograma os isômeros H₂B_{1a} (majoritário) Tr = 13,9 min e o H₂B_{1b} (minoritário) Tr = 11,06, bem como algumas impurezas com tempos de retenção menores (2,72; 7,13 e 9,03 min), com pureza de pico adequada, conforme pode ser observado no cromatograma que representa cromatogramas de 12,5, 25, 50, 75 e 100 µg/mL de IVC matéria prima.

Figura - 1: Cromatograma da Linearidade da IVC Matéria Prima.



Diante dos resultados, o estudo de degradação inicial buscou determinar os parâmetros de degradação ideal (10 a 30% de decaimento de IVC) para seleção das amostras, e posterior desenvolvimento de método analítico capaz de quantificar os produtos de degradação da IVC. Portanto, foram avaliadas condições degradativas variadas descritas na tabela 1 em relação ao percentual de IVC.

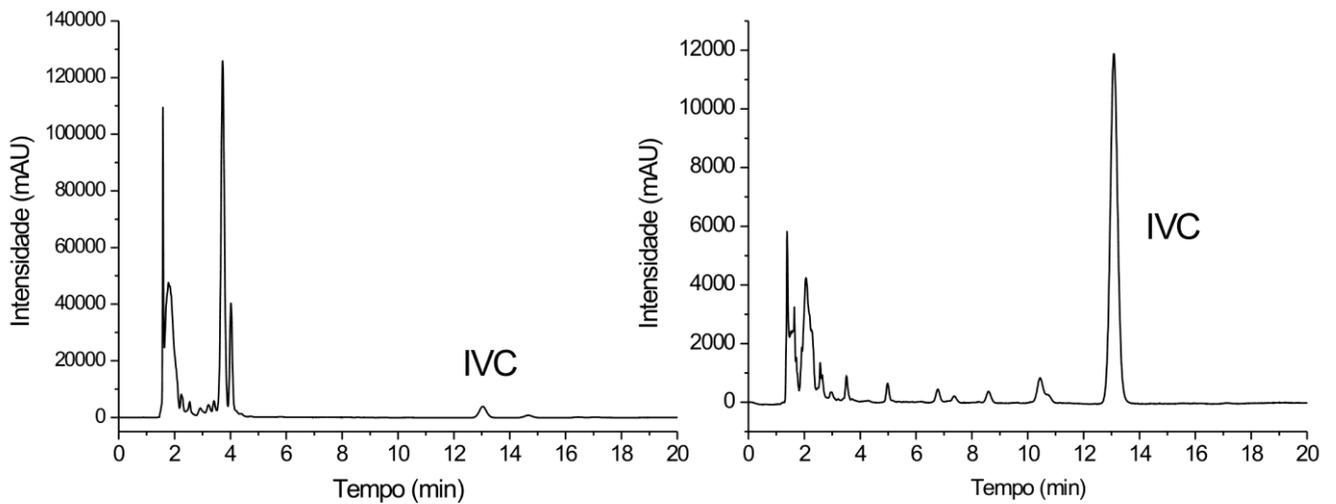
Tabela - 1: Resultado das degradações da IVC.

Hidrólises	Teor de IVC
NaOH 0,01M por 24h a 50°C	81,6%
NaOH 0,1M por 24h a 50°C	67,9%
NaOH 1M por 24h a 50°C	22,34%
HCl 0,01M por 24h a 50°C	90,2%
HCl 0,1M por 24h a 50°C	51,8%
HCl 1M por 24h a 50°C	30,03%
H ₂ O ₂ 3% a 25°C	90,53%
H ₂ O ₂ 6% a 25°C	87,7%
H ₂ O ₂ 9% a 25°C	73,11%

Para as hidrólises, o tempo de degradação de 24 horas com as concentrações menores de 0,01M de HCl e NaOH foram as que obtiveram concentrações ótimas de degradação, enquanto que para a oxidação com peróxido de hidrogênio a concentração intermediária de 6% foi a mais adequada entre as testadas.

A partir destas análises iniciais as amostras supracitadas foram selecionadas para o desenvolvimento do método indicativo de estabilidade, porém devido ao grande número de produtos de degradações formados o método descrito no item “Condições Cromatográficas”, obtido após algumas adaptações, ainda não possui confiabilidade analítica para quantificação dos produtos de degradação da IVC, visto que, é possível observar a co-eluição dos produtos de degradação, nas diferentes condições de degradação, como nas hidrólises ácida e básica ilustrados na figura 2, garantindo apenas a pureza do pico dos isômeros H₂B_{1a} e H₂B_{1b}.

Figura - 2: Cromatograma obtido com método descrito em compêndios oficiais.



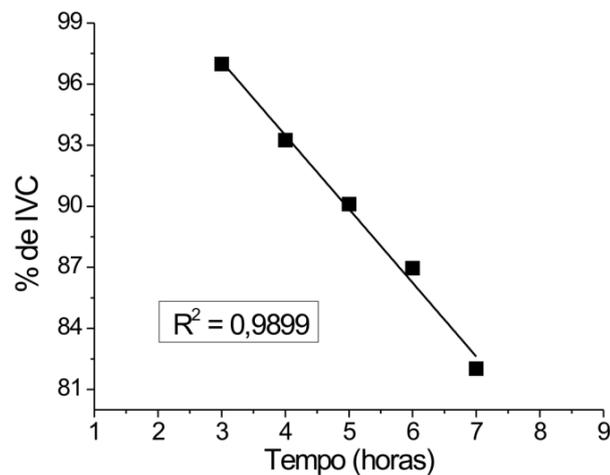
Paralelamente ao estudo de degradação hidrolítica foi realizado o estudo de degradação fotolítica da solução amostra de IVC em que foi possível determinar o decaimento de IVC em função do tempo de exposição, valores descritos na tabela 2.

Tabela - 2: Percentual de IVC fotodegrada versus tempo de exposição.

<i>Amostra</i>	<i>% (CLAE)</i>
Matéria prima IVC (controle interno)	99,30
Solução fotodegradada 3h	96,99
Solução fotodegradada 4h	93,25
Solução fotodegradada 5h	90,10
Solução fotodegradada 6h	86,96
Solução fotodegradada 7h	82,02

Semelhante aos resultados obtidos nas degradações hidrolíticas, não foi possível avaliar com confiabilidade analítica a produção de produtos de degradação na degradação fotolítica devido a co-eluição entre os produtos de degradação. Porém como é possível determinar a pureza do pico cromatográfico da IVC no método otimizado foi possível o cálculo da cinética de degradação fotolítica na solução amostra de IVC, que apresentou-se de ordem zero, com velocidade de reação de $-3,63 \text{ horas}^{-1}$, figura 3.

Figura - 3: Cromatograma representativo da IVC matéria prima Degradada.



A análise dos produtos farmacêuticos: comprimidos de IVC de 6 mg e em forma farmacêutica líquida (solução oral manipulada) de IVC após estudo de estabilidade no modelo acelerado demonstraram um decaimento médio de 7,2% ($\pm 0,43$) e 12,1% ($\pm 0,86$), respectivamente, porém, não foi possível a quantificação relativa dos produtos de degradação gerados devido a co-eluição dos mesmos.

CONCLUSÃO

A grande dificuldade existente no desenvolvimento de um método analítico indicativo de estabilidade para IVC se dá devido a grande estrutura química da IVC, que se degrada em um número elevado de moléculas menores, muitas vezes, com polaridades bastante semelhantes, sendo uma etapa crítica a separação desses produtos de degradação na análise cromatográfica. Sendo assim, se faz necessário realizar novas análises cromatográficas em busca de um método seletivo para quantificação da IVC e seus produtos de degradação.

REFERÊNCIAS

BRITISH PHARMACOPEIA, Veterinary, The stationery Office, London, 2009.

CIONE, A. P.P.; SILVA, P.M. Validação de Metodologia para Análise de Ivermectina e Indicativos de Estabilidade da Molécula Sob Diferentes Condições de Degradação Forçada. *Revista Analytica*, n°32, Dezembro 2007/Janeiro 2008.

CULLY, D. F.; VASSILA, D. K.; LIU, K. K.; PARESS, P. S.; VAN DER PLOEG; SCHAEFFER, J. M.; ARENA, J. P. Cloning of na avermectin-sensitive glutamate-gated chloride channel from *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, v. 371 n. 6499, p. 707-711, 1994.

DENT, J.A.; DAVIS, M. WAYNE & AVERY, L.A. *avr-15* encodes a chloride channel subunit that mediates inhibitory glutamatergic neurotransmission and ivermectin sensitivity in *Caenorhabditis elegans*. *EMBO J.* v. 16, n. 19, p. 5867-5879, 1997.

SANTOS, F.C. Estudo de Pré-formulação da Ivermectina: Caracterização e Estabilidade do Fármaco, 2013.

EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK. Disponível em:
<http://extoxnet.orst.edu/pips/abamecti.htm>, Acessado em 20 de Junho de 2012.

FERREIRA, A. O.; SOUZA, G.F. *Preparações Oraís Líquidas*, 3ª edição, Pharmabooks Editora, 2011.

International Conference on Harmonization, “**ICH Q3A-(R):** Impurities in New Drug Substances,” Step 5, 2002.

International Conference on Harmonization, “**ICH Q3B-(R):** Impurities in New Drug Products,” Step 5, 2003.

ÕMURA, S. Ivermectin: 25 years and still going strong. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v. 31, p. 91–98, 2008.

SINKO, P. J. *Martin – Físico-farmácia e ciências farmacêuticas*. Editora Artmed. 5ªEd. 810p. 2008.

SINGH, S.; BAKSHI, M. Guidance on conduct of stress tests to determine inherent stability of drugs. *Pharmaceutical Technology*, v. 24, p.1-14, 2000.

YOSHIOKA, S.; STELLA, V.J. *Stability of Drugs and Dosage Forms* Kluwer Academic Publishers New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow, 2002.

SANTOS, F.C. Estudo de Pré-formulação da Ivermectina: Caracterização e Estabilidade do Fármaco, 2013.

CONCLUSÃO

6 CONCLUSÃO

- As técnicas analíticas utilizadas para a caracterização do fármaco possibilitaram um melhor entendimento das propriedades físico-químicas da IVC, as quais são essenciais no estudo de pré-formulação;
- A avaliação da estabilidade da IVC frente a excipientes comumente utilizados em formas farmacêuticas sólidas, em misturas binárias, inicialmente através de DSC, e posteriormente, através de técnicas complementares como, IV-FT, DRX, TG e estudos de estabilidade por CLAE, forneceu informações acerca de excipientes;
- Os estudos de degradação em solução aquosa realizados possibilitaram demonstrar que o fármaco é termoestável houve decaimento expressivo da IVC quando submetida a fotodegradação pode-se calcular a cinética de primeira ordem para esta condição. Os resultados obtidos são de extrema importância para o monitoramento da IVC matéria prima, bem como da forma farmacêutica existente;
- Os estudos de degradações forçadas da IVC foram importantes para melhor entendimento da estabilidade do Insumo farmacêutico ativo em diferentes condições de stress.

PERSPECTIVAS

7 PERSPECTIVAS

- Otimização do método para quantificação de IVC, afim de separar cromatograficamente os produtos da degradação.
- Identificar por CLAE- MS os produtos da degradação obtidos em diferentes condições de estresse.
- Realização de Cinética em diferentes condições de estresse.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS

ALSANTE, K.M.; MARTIN, L.; BAERTSCHI, S.W.A. *Stress Testing Benchmarking Study*. Pharmaceutical Technology, p. 60-72, February 2003.

ANSEL HC, POPOVICH NG, ALLEN LV. *Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos*. 8. ed. Porto Alegre: Artmed; 2007.

ARENA, J. P. *et al.* The mechanism of action of avermectins in *Caenorhabditis elegans*: correlation between activation of glutamate-sensitive chloride current, membrane binding, and biological activity. **The Journal of Parasitology**, v. 81, n. 2, p.286-294, 1995.

AULTON M,E. *Delineamento de formas farmacêuticas*. 2. ed. Porto Alegre: Artmed; 2005.

BEASLEY, C. A. *et al.* Identification of impurities in ivermectin bulk material by mass spectrometry and NMR. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, n. 4, p.1124-1134, 2006.

BARRAGRY, T. B. A review of the pharmacology and clinical uses of ivermectin. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 28, n. 8, p.512-517, 1987.

BOCKARIE, M.J. *et al.* *Role of Vector Control in the Global Program to Eliminate Lymphatic Filariasis*. Annu. Rev. Entomol, v. 54, p. 469-487, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RE n° 560, de 02 de abril de 2002. Determina a publicação do Guia para realização de estudos de estabilidade. Brasília: Diário Oficial da União, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RE n.º 899, de 29 de maio de 2003b. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/e-legis/>>. Acesso em: 19.12.2012b.

SANTOS, F.C. *Estudo de Pré-formulação da Ivermectina: Caracterização e Estabilidade do Fármaco*, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RE nº 01, de 29 de julho de 2005. Autoriza, ad referendum, a publicação do Guia para realização de estudos de estabilidade. Brasília: Diário Oficial da União, 2005.

BRASIL. Guia de Vigilância Epidemiológica e Eliminação da Filariose Linfática, Brasília, DF, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consulta Pública – CP nº 116, de 23 de dezembro de 2010.

BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. *Goodman & Gilman. As bases farmacológicas da terapêutica*. 11. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2007. 1821 p.

BONFIM, C. V. **Filariose Bancroftiana**: a representação espacial das desigualdades sociais. 2002. 103f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Departamento de Saúde Coletiva, Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2002.

CHAVES, L.L. *Estudo de Estabilidade Forçada do Fármaco Citrato de Dietilcarbamazina Utilizado no combate á Filariose Linfática* dissertação de Mestrado, 2012, Recife, 180p.

CHASIN, A.A.M.; CHASIN, M.; SALVADORI, M. C. Validação de métodos cromatográficos em análises toxicológicas. **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v.30, n.2, p.49-53, 1994.

CARSTENSEN JT & Rhodes CT. *Drug Stability*, 3th Edition, Informa health care, New York/London, 2007, 772p.

CARVALHO, J.P.; SANTOS, A.S.; SÁ, A.S.; TEIXEIRA, T.S.; NOGUEIRA, M.S. *Estabilidade de medicamentos no âmbito da farmacovigilância*. *Fármacos e Medicamentos*, v. 34, n. 6, 22-27, 2005.

SANTOS, F.C. Estudo de Pré-formulação da Ivermectina: Caracterização e Estabilidade do Fármaco, 2013.

CROUBELS, S. *et al.* Determination of ivermectin B(1a) in animal plasma by liquid chromatography combined with electrospray ionization mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 37, n. 8, p.840-847, 2002.

DREYER, G.; DREYER, P.; NORÕES, J. *Recomendações para o tratamento da filariose bancroftiana, na infecção e na doença.* Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 35, n.1, p.43-50, 2002.

GEARY, T. G. Ivermectin 20 years on: maturation of a wonder drug. **Trends in Parasitology**, v. 21, n. 11, p.530-532, 2005

DREYER, G. ; MATTOS, D. ; LINS, R. ; FRAIHA, H. . Myiasis in a bancroftian filariasis endemic area. *Journal of Lymphoedema*, v. 3, p. 10-16, 2008.

DREYER, G. ; ADDISS, D. ; NORÕES, J. . Does Longevity of Adult *Wuchereria bancrofti* Increase with Decreasing Intensity of Parasite Transmission? Insights from Clinical Observations.. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, Inglaterra, v. 99, p. 883-892, 2005.

CIONE, A.P.P .; SILVA,P.M Validação de Metodologia para análise de Ivermectina e indicadores de estabilidade da Molécula Sob diferentes condições de Degradação Forçada. *Revista Analítica*, nº 32 Dezembro de 2007/Janeiro 2008.

DURDEN, D. A. Positive and negative electrospray LC-MS-MS methods for quantitation of the antiparasitic endectocide drugs, abamectin, doramectin, emamectin, eprinomectin, ivermectin, moxidectin and selamectin in milk. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 850, n. 1-2, p.134-146, 2007.

EUROPEAN, Pharmacopoeia. 6. ed. Strasbourg: Council of Europe, 2007.

ERMER, J. Validation in pharmaceutical analysis. Part I: an integrated approach. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.24, n.5, p.755-767, 2001.

GEARY, T. G. Ivermectin 20 years on: maturation of a wonder drug. **Trends in Parasitology**, v. 21, n. 11, p.530-532, 2005.

GOPINATH, R.; NAIDU, R.A.S. *Pharmaceutical Preformulation Studies – Current Review* Int. J. Pharm. Biolog. Arch. v. 2, n. 5, p. 1391-1400, 2011.

GONZALEZ CANGA, A. *et al.* The pharmacokinetics and metabolism of ivermectin in domestic animal species. **The Veterinary Journal**, v. 179, n. 1, p.25-37, 2009.

GOMES, S.V.F Desenvolvimento de método por cromatografia líquida de alta eficiência para diferenciação de genótipos *Lippia gracilis* – São Cristóvão, 2009.

HERNANDO, M. D. *et al.* Fast separation liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the confirmation and quantitative analysis of ivermectin residues in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1155, n. 1, p.62-73, 2007.

HUYNH-BA, K. *Handbook of Stability Testing in Pharmaceutical Development*. Editor Springer, New York, USA, 2009.

International Conference on Harmonisation (ICH). *Guidance for industry Q1A(R2) stability testing of new drug substances and products*. nov, 2003.

ICH - International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. Harmonised Tripartite Guideline. **Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1)**, 2005. Disponível em: <www.ich.org/LOB/media/MEDIA417.pdf>. Acesso em: 19.12.2012

INOUE, K. *et al.* Simultaneous determination of avermectins in bovine tissues by LCMS/MS. **Journal of Separation Science**, v. 32, n. 21, p.3596-3602, 2009.

KINSELLA, B. *et al.* New method for the analysis of flukicide and other anthelmintic residues in bovine milk and liver using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytical Chimica Acta**, v. 637, n. 1-2, p.196-207, 2009.

KLICK, S. *et al.* *Toward a Generic Approach for Stress Testing of Drug Substances and Drug Products*. Pharmaceutical Technology, v.5, p. 48, 2005.

KATZUNG, B. G. *Farmacologia básica e clínica*. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 991 p.

LANÇAS, F.M. *Cromatografia líquida moderna: HPLC/CLAE*- Campinas, SP Editora Átomo, 2009.

LAPACHINSKE, S. F. **Quantificação de MDMA em amostras de ecstasy por cromatografia em fase gasosa (GC/NPD)**. São Paulo, 2004. 92 p.

LAGRANGE, F. *Déconditionnement et stabilité des formes orales sèches solides : états des connaissances Current perspectives on the repackaging and stability of solid oral doses*. Annales Pharmaceutiques Françaises, v. 68, p. 332-358, 2010.

LASZCZ, M.; TRZCINKA, K.; KUBISZEWSKI, M.; KOSMACINSKA, B.; GLICE M. *Stability studies and structural characterization of pramipexole*. J Pharm Biomed Anal, v. 53, n. 4, 1033-1036, 2010.

LIMA, A.W.S. *Reações adversas ao tratamento em massa com dietilcarbamazina em populações de áreas endêmicas de filariose linfática no Recife-PE*. Dissertação de mestrado, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2006, 108p.

SANTOS, F.C. Estudo de Pré-formulação da Ivermectina: Caracterização e Estabilidade do Fármaco, 2013.

LEITE, E.G. *Estabilidade: importante parâmetro para avaliar a qualidade, segurança e eficácia de fármacos e medicamentos*. [Tese]. Porto Alegre: Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2006. 178 p.

LEHNER, A. F. *et al.* ESI+ MS/MS confirmation of canine ivermectin toxicity. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 44, n. 1, p.111-119, 2009. Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2006. 178 p.2009.

LEITE, E.G. *Estabilidade: importante parâmetro para avaliar a qualidade, segurança e eficácia de fármacos e medicamentos*. [Tese]. Porto Alegre: Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2006. 178 p.

LIMA, A.W.S. Reações adversas ao tratamento em massa com dietilcarbamazina em populações de áreas endêmicas de filariose linfática no Recife-PE. Dissertação de mestrado, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2006, 108p.

LOUATI, K.; MISTIRI, F.; KALLEL, M.; SAFTAB, F. *Stress degradation study on sulfadimethoxine and development of a validated stability-indicating HPLC assay*. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, v. 69, p, 2011.

MONAJJEMZADEH, F.; HASSANZADEH, D.; VALIZADEH, H.; SIAHI-SHADBAD, M.R.; MOJARRAD, J.S.; ROBERTSON, T.A.; ROBERTS, M.S. *Compatibility studies of acyclovir and lactose in physical mixtures and commercial tablets*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 73, p. 404-413, 2009.

MATTOS, D.; DREYER, G. *A complexidade do custo socioeconômico da filariose linfática*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.41, n. 4, p. 399-403, 2008.

MARTINEZ VIDAL, J. L. *et al.* Development of fast screening methods for the analysis of veterinary drug residues in milk by liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 397, n.7, p.2777-2790, 2010.

SANTOS, F.C. Estudo de Pré-formulação da Ivermectina: Caracterização e Estabilidade do Fármaco, 2013.

MEDEIROS, Z.; MENEZES, J. A.; CASSE, E.; LESSA, F. Controle da Filariose Linfática no Brasil, 1951-2000. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v.12, n.2, p. 77-86, abr./jun.2003.

MELROSE, W. Control of Lymphatic Filariasis. In **Lymphatic Filariasis: a review 1862-2002**. Austrália: Warwick Educational Publishing, 2004. p.46-50. The vectors of Filariasis. In: **Lymphatic Filariasis: a review 1862-2002**. Austrália: Warwick Educational Publishing, 2004a. p. 9.

MELO, S.A.S.; TROVÓ, A.G.; BAUTITZ, I.R.; PUPO, R.F NOGUEIRA. *Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados*. Quim. Nova, v.32, n. 1, p. 188-197, 2009.

OTTESEN, E.A. et al.. *The Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis: Health Impact after 8 Years*. Neglected tropical disease, v.2, n.10, p. 1-12, 2008.

PINTO, T.J.A.; KANEKO, T.M.; PINTO, A.F. *Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos*. 3. Ed. São Paulo: ATHENEU; 2010.

QIU, Y.; CHEN, Y.; ZHANG, G.G.Z.; LIU, L.; PORTER, W. *Developing solid oral dosage forms: Pharmaceutical Theory and Practices*. 1. ed. New York: Elsevier, 2009.

RAMAIAH K.D.; DAS, P.K.; VANAMAIL, P.; PANI, S.P. *Impact of 10 years of diethylcarbamazine and ivermectin mass administration on infection and transmission of lymphatic filariasis*. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, v. 101, p. 555-563, 2007.

REGIS, L.; FURTADO, A. F.; OLIVEIRA, C. M. F. et al. Controle integrado do vetor da filariose com participação comunitária, em uma área urbana do Recife, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.12, n.4, p. 473-82, out./dez. 1996.

RIBEIRO, L. *Caracterização do estado sólido e análise computacional de uma nova forma cristalina do fármaco antifilariose dietilcarbamazina: uma sal de ácido maléico*. Dissertação de mestrado, São Carlos, 2011, 117p.

SANTOS, F.C. *Estudo de Pré-formulação da Ivermectina: Caracterização e Estabilidade do Fármaco*, 2013.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C.B.G.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F.; MELO, L.F.C.

Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v.27, n.5, p.771-780, 2004.

RODANTE, F.; VECCHIO, S.; CATALANI, G.; TOMASSETTI, M. *Compatibility between active components of a commercial drug*. *II Farmaco*, v. 27, p. 833-843, 2002.

ROLIM L.A. *Estudo de degradação do fármaco Benidazol (BNZ) utilizado no combate a doença de chagas por hidrólise, oxidação, fotólise e termodegradação*. Dissertação de mestrado, 2010, Recife, 112 p.

ROCHA, E. M. M.; FONTES, G.; BRITO, A. C.; SILVA, T. R. C.; MEDEIROS, Z.; ANTUNES, C. M. F. Filariose Bancroftiana em áreas urbanas do estado de Alagoas, nordeste do Brasil: estudo em população geral. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 33, n. 6, nov./dez. 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br>.

SILVA, K.E.R.; ALVES, L.D.S.; SOARES, M.F.R.; PASSOS, R.C.S.; FARIA, A.R.; ROLIM-NETO, P.J. *Modelos de Avaliação da Estabilidade de Fármacos e Medicamentos para a Indústria Farmacêutica*. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 30, n. 2, p. 1-8, 2010

SILVA, K.E.R.; ALVES, L.D.S.; SOARES, M.F.R.; PASSOS, R.C.S.; FARIA, A.R.; ROLIM-NETO, P.J. *Modelos de Avaliação da Estabilidade de Fármacos e Medicamentos para a Indústria Farmacêutica*. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 30, n. 2, p. 1-8, 2009.

SANTOS, Z.C. Tratamento coletivo de filariose com dose única de dietilcarbamazina em residentes de área endêmica do Recife, Pernambuco: um estudo antes e depois. Dissertação de mestrado, Universidade de Pernambuco, Recife, 2005, 76p.

SANTOS, F.C. Estudo de Pré-formulação da Ivermectina: Caracterização e Estabilidade do Fármaco, 2013.

SEHRAWAT, R.; MAITHANI, M.; SINGH, R. *Regulatory Aspects in Development of Stability-Indicating Methods: A Review*. *Chromatographia*, v. 72, p.1-6, 2010.

SOMMA, R. *Development Knowledge Can Increase Manufacturing Capability and Facilitate Quality by Design*. *J Pharm Innov*, v.2, p..87-92, 2007.

SOARES, M.F.R. *Desenvolvimento tecnológico de comprimido antirretroviral em associação dose fixa de zidovudina, lamivudina e efavirenz*. [Tese] Recife: Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco. 178 p.

SOARES-, J. L.; LYRA, M.A.; ALVES, L.D.S.; ROLIM-NETO, P.J. Caracterização Físico-SOBRINHO Química do Tripanomicida Benznidazol para o Desenvolvimento de Medicamentos *Lat. Am. J.Pharm.*, v. 29, p. 803-807, 2010(b).

SILVA, P. *Farmacologia*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 1398 p.

SHABIR, G.A. 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.

SWARTZ, M.E.; KRULL, I.S. Validação de Métodos Cromatográficos. **Pharmaceutical Technology**, São Paulo, v.2, n.3, p.12-20, 1998.

USP. **The United States Pharmacopoeia**. 31. ed. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, 2008.

WHELAN, M. *et al*. Determination of anthelmintic drug residues in milk using ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with rapid polarity switching. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 27, p.4612-4622, 2010.

SANTOS, F.C. *Estudo de Pré-formulação da Ivermectina: Caracterização e Estabilidade do Fármaco*, 2013.

World Health Organization. Global programme do eliminate lymphatic filariasis: annual reporto n lymphatic filariasis 2006. Weekly Epidemiological Record, v.82, n. 42, p. 361-380, 2007.

World Health Organization. Global programme do eliminate lymphatic filariasis: annual reporto lymphatic filariasis, 2012.

YOSHIOKA, S.; STELLA, V.J. *Stability of Drugs and Dosage Forms*. Kluwer Academic Publishers, New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow, 2002.

ANEXO

ANEXO
Artigo Submetido

Journal of Thermal Analysis and Calorimetry
THE APPLICATION OF THE CONCEPT OF QUALITY BY DESIGN TO THE
PREFORMULATION STUDY OF IVERMECTIN
–Manuscript Draft–

Manuscript Number:	
Full Title:	THE APPLICATION OF THE CONCEPT OF QUALITY BY DESIGN TO THE PREFORMULATION STUDY OF IVERMECTIN
Article Type:	Original Research
Corresponding Author:	Jose Lamartine Soares-Sobrinho, Ph. D. Federal University of Pernambuco Recife, Pernambuco BRAZIL
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Federal University of Pernambuco
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Larissa Araújo Rolim, Ph.D.
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Larissa Araújo Rolim, Ph.D. Rávia Cássia Maria Santos Luíse Lopes Chaves Maria Luíza Carneiro Moura Gonçalves, Pharmaceutical André Luiz da Silva Nascimento José Loureço Freitas-Neto Miracy Muniz Albuquerque, Ph.D. Jose Lamartine Soares-Sobrinho, Ph. D. Maria Carmo Alves Lima, Ph.D. Pedro José Rolim-Neto, Ph.D.
Order of Authors Secondary Information:	
Abstract:	The aim of this study was to characterize the raw material ivermectin (IVC) using the concepts of Quality by Design (QbD) for a drug that is widely used because of its pharmacological characteristics. Mass spectroscopic infrared absorption analyses were carried out to identify the molecule and further analyses to confirm the crystalline structure of the drug (electron sweep microscopy and X-ray diffraction), as well as granulometric analysis, apparent and compacted density, leading to the conclusion that, even with a crystalline structure IVC has good flow and compressibility. Differential Scanning Calorimetry (DSC) and thermogravimetric analysis (TG) were used for the infrared thermal characterization, determination of the melting point (157°C), initial degradation temperature (305°C), loss of mass with the increase in temperature (3 events, the first dissolution and degradation in two consecutive stages). Using the aforementioned techniques, it was possible to carry out a compatibility study IVC: excipients (used in solid pharmaceutical form), which demonstrated an incompatibility between IVC and lactose and amide. These results can be used to develop new pharmaceutical forms and for more rational quality control of forms already available on the market, with better understanding of the characteristics of IVC.
Suggested Reviewers:	Danilo Cesar Galindo Bedor, Ph.D. Professor, Federal University of Pernambuco danilo.bedor@nudfac.com.br

Powered by Editorial Manager® and Preprint Manager® from Aries Systems Corporation

SANTOS, F.C. Estudo de Pré-formulação da Ivermectina: Caracterização e Estabilidade do Fármaco, 2013.