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

ESTUDO ANALÍTICO APLICADO À INVESTIGAÇÃO DO PERFIL DE DEGRADAÇÃO DO ANTIBIÓTICO CEFTAROLINA FOSAMILA EM SOLUÇÃO DE USO CLÍNICO

MARIANNA COELHO MENDES

PORTO ALEGRE, 2024

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

ESTUDO ANALÍTICO APLICADO À INVESTIGAÇÃO DO PERFIL DE DEGRADAÇÃO DO ANTIBIÓTICO CEFTAROLINA FOSAMILA EM SOLUÇÃO DE USO CLÍNICO

Dissertação apresentada por Marianna Coelho Mendes para obtenção do TÍTULO DE MESTRE em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Andreas Sebastian Loureiro Mendez

Porto Alegre, 2024

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 29/11/2024, pela Banca Examinadora constituída por:

Profa. Dra. Cássia Virgínia Garcia

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Clésio Soldateli Paim

Universidade Federal do Pampa

Profa. Dra. Flávia Nathiely Silveira Fachel

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

CIP - Catalogação na Publicação

Coelho Mendes, Marianna
ESTUDO ANALÍTICO APLICADO À INVESTIGAÇÃO DO PERFIL DE DEGRADAÇÃO DO ANTIBIÓTICO CEFTAROLINA FOSAMILA EM SOLUÇÃO DE USO CLÍNICO / Marianna Coelho Mendes. -- 2024.
91 f.
Orientador: Andreas Sebastian Loureiro Mendez.

Coorientadora: Graciela Carlos Vieira.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2024.

1. estudos de estabilidade. 2. produtos de degradação. 3. ESI-QTOF. 4. HPLC-DAD. 5. Ceftarolina Fosamila. I. Loureiro Mendez, Andreas Sebastian, orient. II. Carlos Vieira, Graciela, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

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

AGRADECIMENTOS

À minha família: Meu pai Claudio; À “Preta” (Maria Júlia) que já não está mais neste plano; E, com dedicação especial, à minha mãe Rosana de quem herdei o gosto pela pesquisa.

À Hellena, minha parceira, pelo apoio, compreensão e companheirismo durante estes dois desafiadores anos.

Aos meus amigos de longa data (Ângelo, Aymê, Marina, Evelyn, Carla, Dyowanne), por sempre estarem presentes a cada conquista.

Às minhas gestoras de trabalho, especialmente à Lauren, pela compreensão e flexibilidade para conciliação de trabalho e estudos;

Ao Prof. Dr. Andreas Sebastian Loureiro Mendez pela orientação, acolhimento e incentivo em mais um desafio da minha formação acadêmica. À Graciela Carlos pelas discussões.

Ao Prof. Dr. Tiago Franco de Oliveira pela colaboração e apoio no desenvolvimento deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Controle de Qualidade Farmacêutico (LCQFar - UFRGS), em especial à bolsista de iniciação científica Lilian, pelo suporte no laboratório.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – UFRGS.

RESUMO

A ceftarolina fosamila é uma descoberta recente da classe das cefalosporinas de quinta geração, tendo em vista o tempo longínquo de desenvolvimento de novos antimicrobianos, com poucos estudos publicados sobre sua estabilidade. Os estudos de estabilidade fornecem evidências sobre como os compostos poderão variar com o tempo a partir de influência de fatores ambientais como temperatura, luz e umidade. É a partir desses estudos, sobretudo o estudo de degradação forçada, que se torna possível conhecer e avaliar o perfil de degradação das substâncias. Dessa forma, o presente trabalho propõe-se realizar uma investigação da estabilidade da ceftarolina fosamila em formulação injetável (Zinforo®), com o foco na avaliação do perfil de degradação, em condições de uso clínico, e monitoramento do produto de degradação majoritário (forma ativa – ceftarolina), com proposição das rotas químicas de degradação, através da exposição a temperaturas de 4ºC, 25ºC, 40ºC e 60ºC, por diferentes tempos, aplicando técnicas analíticas de HPLC-DAD e ESI-QTOF, e predição *in silico.* As análises por HPLC-DAD revelaram que a ceftarolina fosamila sofre degradação quando exposta a 25ºC, condição de uso clínico (temperatura ambiente), quando diluída em solução de glicose 5% e solução salina 0.9% (bolsas de infusão). Na condição de estresse, a ceftarolina fosamila sofre degradação a 40ºC quando reconstituída em água, com decaimento de até 9%, quando diluída na solução de glicose, com decaimento de até 90%, e quando diluída na solução salina, com decaimento de até 65%. Os resultados obtidos por HPLC-DAD foram coerentes com resultados obtidos por ESI-QTOF indicando que calor e presença de água facilitam hidrólise e rearranjos químicos. Os produtos de degradação *m/z* 303, *m/z* 337, *m/z* 442, *m/z* 483 e *m/z* 543 foram propostos bem como suas rotas de degradação. O fragmento *m/z* 864 da predição *in silico* foi correlacionada aos resultados obtidos por ESI-QTOF, para a amostra diluída de ceftarolina fosamila em solução de glicose 5% exposta a 40ºC por 72h. Essas descobertas corroboram com a importância de controlar a temperatura de armazenamento a fim de garantir a estabilidade da ceftarolina fosamila e fornecem informações importantes para farmacovigilância.

Palavras-chave: ceftarolina fosamila; estudos de estabilidade; produtos de degradação; ESI-QTOF; HPLC-DAD; predição *in silico*

ABSTRACT

Ceftaroline fosamil is a new compound of the class of fifth-generation cephalosporins, with few published studies on its stability. Stability studies provide evidence of how compounds may change over time due to the influence of environmental factors such as temperature, light, and humidity. From these studies, particularly forced degradation studies, it is possible to understand and evaluate the degradation profile of substances.This study aimed to investigate the stability of ceftaroline fosamil in an injectable formulation (Zinforo®), evaluating the degradation profile under conditions of clinical use and monitoring the major degradation product (the active form - ceftaroline), proposing chemical degradation pathways through exposure to temperatures of 4ºC, 25ºC, 40ºC and 60ºC, to different periods time. Analyses were performed by HPLC-DAD, ESI-QTOF, and *in silico* prediction. The HPLC-DAD analyses revealed that ceftaroline fosamil degrades when exposed at 25ºC, the clinical use condition (room temperature), when diluted in 5% glucose solution and 0.9% saline solution. Under thermal stress conditions, ceftaroline fosamil degrades at 40ºC when reconstituted in water, with a decay of up to 9%, when diluted in glucose solution, with a decay of up to 90%, and when diluted in saline solution, with a decay of up to 65%. The results observed from HPLC-DAD were consistent with the results observed from ESI-QTOF, indicating that heat and the presence of water facilitate hydrolysis and chemical rearrangements. The degradation pathways of degradation products *m/z* 303, *m/z* 337, *m/z* 442, *m/z* 483 and *m/z* 543 were proposed. The *m/z* 864 fragment from the *in silico* prediction was correlated with the results observed from ESI-QTOF, for the diluted sample of ceftaroline fosamil in 5% glucose solution exposed at 40ºC for 72h. The results corroborate the importance of controlling the storage temperature to guarantee the stability, efficacy, and safety of ceftaroline fosamil for administration to patients, providing important information to pharmacovigilance.

Keywords: ceftaroline fosamil; stability studies; degradation products; ESI-QTOF; HPLC-DAD; *in silico* prediction

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Grupo de compostos da classe dos β-lactâmicos, caracterizados pela presença do anel β-lactâmico indicado pela seta vermelha (Fonte: WILLIAMS, 1999). 35
Figura 2. Estrutura básica das cefalosporinas, composta pelo anel ß-lactâmico (B) com cadeia radical (A) ligado ao anel di-hidrotiazínico (C), que formam ácido 7-aminocefalosporânico (D) (Fonte: Imagem adaptada de AZEVEDO, 2014). 37
Figura 3. Estrutura química e descrição dos principais grupos químicos constituintes da estrutura química da Ceftarolina Fosamila (Fonte: LAUDANO, 2011, com tradução do inglês). 39
Figura 4. Bioconversão da ceftarolina fosamila em sua forma ativa (Fonte: YEE et al., 2011). 40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características físico-químicas do antibiótico. 38

LISTA DE ESQUEMAS

LISTA DE ABREVIATURAS

AMR -	Antimicrobial Resistance
ANVISA -	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
API -	Active Pharmaceutical Ingredient
CAP -	Community-acquired Pneumonia
CEAF -	Componente Especializado da Assistência Farmacêutica
CSSTIs -	Skin and Soft Tissues Infections
EMA -	European Medicines Agency
ESI-QTOF -	Electrospray ionization quadrupole time-of-flight
FDA -	Food and Drugs Administration
HPLC-DAD -	High-performance liquid chromatography with diode-array detection
ICH -	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals Human Use
IFA -	Insumo Farmacêutico Ativo
IPPMc -	Infecções de pele e partes moles complicadas
MRSA -	methicillin-resistant Staphylococcus aureus
MSSA -	Meticillin-Sensitive Staphylococcus. Aureus
PAC -	Pneumonia adquirida da comunidade
PBP -	Penicillin-binding proteins
PDP -	Predicted Degradation Product
PLP -	Proteínas ligadoras de penicilina
RAM -	Resistencia Antimicrobiana
RDC -	Resolução da Diretoria Colegiada
Rename -	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
SUS -	Sistema Único de Saúde
VRSA -	Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 23
2. OBJETIVOS 29
2.1 Objetivo geral 31
2.2. Objetivos específicos 31
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 33
3.1. Antibióticos Beta-lactâmicos 35
3.1.1. Grupo das Cefalosporinas 36
3.2. Ceftarolina Fosamila 37
3.2.2 Características Físico-Químicas 37
3.2.3 Farmacocinética e Mecanismos de Ação 39
3.2.4 Uso Terapêutico e Posologia 40
3.2.5 Orientações de Uso e Armazenamento 41
3.3 Histórico Regulatório e Distribuição no Brasil 42
3.4 Controle de Qualidade de Medicamentos 43
3.4.1. Estudos de Estabilidade 43
3.4.2 Produtos de Degradação 45
3.5 Escassez de Dados Técnico-Científicos 45
4. Capítulo I: Artigo Científico a ser submetido à publicação. 47
4.1 Artigo Científico: 49
5. DISCUSSÃO GERAL 75
6. CONCLUSÃO 81
7. REFERÊNCIAS 85

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Dos antibióticos incipientes, tendo em vista o tempo longínquo de desenvolvimento desse tipo de fármaco, a ceftarolina fosamila, de nome comercial Zinforo®, é um exemplo relativamente recente da classe das cefalosporinas, ainda com poucos estudos publicados, e classificada como um cefalosporínico de quinta geração, sendo a última geração conhecida dessa classe. Isso porque possui ação de amplo espectro, atuando contra as infecções de pele e partes moles complicadas (IPPMc) causadas por isolados sensíveis de *Staphylococcus aureus* (incluindo cepas resistentes à meticilina - MRSA), pneumonia adquirida na comunidade (PAC) causada por isolados sensíveis de *Streptococcus pneumoniae* (incluindo casos com bacteremia concomitante), *Staphylococcus aureus* (apenas cepas sensíveis à meticillina - MSSA), além de outras bactérias gram-negativas e gram-positivas (PFIZER, 2017). No Brasil, o Zinforo® foi registrado na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em 2014, pelo laboratório AstraZeneca, sob a forma farmacêutica de pó para solução para infusão contendo 600 mg de ceftarolina fosamila em embalagens com 10 frascos-ampolas.

A resistência antimicrobiana, que consiste na capacidade de microrganismos resistirem a ação de fármacos, é uma ameaça constante à saúde humana e que traz implicações em problemas socioeconômicos. No que tange a economia, o prolongamento de tratamentos que acabam se demonstrando ineficazes, mobilizando e despendendo gastos de sistemas de saúde, e no que tange ao social, causando um aumento anual de mortes, a partir dos evolutivos quadros de tratamentos interrompidos e conduzidos de forma equivocada e maior capacidade de mutação em âmbito hospitalar dos microrganismos patogênicos (PACIOS et al., 2020). Estima-se um aumento anual de mortes envolvendo resistência antimicrobiana, cerca de 1.3 milhão de pessoas por ano. Além disso, o impacto econômico previsto atualmente é de 1 trilhão de dólares após 2030 e mais de 2 trilhões de dólares após 2050 (MURRAY et al., 2022). No Brasil, que dispõe, além das redes privadas de saúde, do Sistema Único de Saúde (SUS) custeado pelo dinheiro público e utilizado pela maioria da população, o custo para a aquisição dos

antimicrobianos, representa de 20% a 60% dos gastos na maioria dos hospitais (PHELIPPIN, 2016) (PULINGAM et al., 2022).

No caso da resistência bacteriana a antibióticos, existem diversos mecanismos avaliados para o desenvolvimento dessa capacidade, sendo os principais: alteração na permeabilidade da membrana, alteração no local de atuação do antibiótico, bombeamento ativo do antibiótico para fora da bactéria e a produção de enzimas que destroem os antibióticos, sendo o mais frequente observado em bactérias (SEFTON, 2002; REYGAERT, 2018). Paradoxalmente, apesar da alta demanda médica e necessidade da introdução de novos agentes terapêuticos à comunidade, existem poucos investimentos para desenvolvimento e descoberta de novas classes de antibióticos, devido, principalmente a baixa rentabilidade, em consequência a procura ocasional e tratamento finito, com prescrições esparsas, além da disseminação acentuada de fármacos genéricos, porém alto custo e um longo período para execução dos estudos (TANG et al., 2023).

Dados de fevereiro de 2022 explicitam que apenas 18 estudos para desenvolvimento de novos antibióticos estava em andamento, nas fases pré-clínica e clínica, a grande maioria estando em fase 1, etapa crítica onde é comum o fracasso terapêutico dos compostos testados (ISKANDAR, 2022). Além disso, existe complexidade na síntese de moléculas antimicrobianas novas e pesquisas para descoberta de novas classes, principalmente de produtos naturais, que são os alvos de maior sucesso no âmbito dos antibióticos, como as penicilinas, os carbapenêmicos ou as cefalosporinas. Diante desse cenário, a melhor alternativa é dedicar os esforços, os investimentos e mais pesquisas para classes e grupos já conhecidos, optando-se pelo desenvolvimento de gerações de fármacos cuja classe já tem o mecanismo de ação bem estabelecido. Dos estudos supracitados em andamento no ano de 2022, 5 deles envolve o grupo das cefalosporinas, seja atuando de forma isolada ou associada com outro grupo da classe de beta-lactâmicos (THEURETZBACHER, 2019).

Diante do exposto, é possível inferir que a ceftarolina fosamila é um composto promissor e que ainda merece e requer contínuos estudos que demonstrem não só a capacidade e eficiência terapêutica, mas também a avaliação e conhecimento do comportamento e estabilidade da substância, decorrentes das condições de exposição e armazenamento em que será submetida. Nesse sentido, o controle de qualidade no desenvolvimento de um

novo medicamento também requer inúmeros testes, considerando as características do meio, como temperatura, umidade, incidência de luz, em que será incorporado e do público a quem irá se destinar, tendo-se, dessa forma, um maior conhecimento da performance do composto quando desafiado em diferentes contextos e proporcionando maior segurança na introdução do medicamento à comunidade (KOSURU et al., 2023). Os estudos de estabilidade, baseados em guias compendiais de órgãos sanitários reguladores, consistem em avaliações que objetivam desafiar o medicamento ao tempo e a diferentes condições de armazenamento, buscando identificar produtos de degradação e impurezas, determinando suas rotas de degradação, que comprometam o potencial terapêutico, bem como apresentem toxicidade em potencial ao paciente (VIAENE, 2002) (PAGAR et al., 2022).

No contexto de investigação e avaliação de produtos de degradação, a predição a partir de modelos experimentais *in silico* pode ser uma ferramenta facilitadora e complementar, a partir de banco de dados robustos, alimentados por produções técnico-científicas, sobre mecanismos e rotas de degradação cientificamente conhecidas e estabelecidas, envolvendo a degradação química de diferentes substâncias já estudadas a partir de estudos de estabilidade publicados (KLEINMAN, 2014). Além da predição de produtos de degradação, alguns modelos experimentais *in silico* são capazes de predizer toxicidade dos produtos formados, otimizando e direcionando as pesquisas *in vitro* ou *in vivo*, por exemplo, economizando recursos e podendo tornar a experimentação laboratorial direcionada e mais assertiva (MAHAJAN et al., 2023)

Tendo em vista a crescente ameaça da resistência antimicrobiana à saúde pública, e o custo e o tempo elevados no desenvolvimento de novos compostos com potencial bactericida, estudos que investiguem produtos de degradação dos antibióticos de última geração, a partir dos estudos de estabilidade, se tornam extremamente necessários para contribuir com aspectos investigativos acerca da segurança e eficácia utilização da rotina hospitalar. Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo investigar a estabilidade do antibiótico Zinforo®, no pó injetável, pós-reconstituição e diluições para infusão, a partir de condições de uso clínico, com foco na identificação de produtos de degradação e determinar suas possíveis rotas de degradação.

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a estabilidade do antibiótico ceftarolina fosamila na forma farmacêutica pó para solução injetável, na condição de uso clínico e conforme estudo de degradação forçada, investigando seu perfil de degradação e monitorando o produto de degradação majoritário, a partir da aplicação das técnicas de HPLC-DAD e ESI-QTOF, e predição de produtos de degradação *in silico*.

2.2. Objetivos específicos

- ✓ Estudar a estabilidade do antibiótico ceftarolina fosamila em diferentes apresentações farmacêuticas para uso clínico, em condições de degradação forçada;
- ✓ Correlacionar o efeito da condição de estresse gerada no estudo de degradação forçada e condição de uso clínico, para avaliar a estabilidade e suscetibilidade do medicamento;
- ✓ Investigar os produtos de degradação formados, com foco no produto de degradação majoritário, a partir de análises por HPLC-DAD e ESI-QTOF;
- ✓ Correlacionar as predições *in sílico* com os resultados experimentais analisados por ESI-QTOF;
- ✓ Fundamentar a relevância dos produtos de degradação obtidos como indicativos de degradação da ceftarolina fosamila;
- ✓ Estabelecer o perfil de degradação do composto ceftarolina fosamila, bem como seus produtos de degradação, estabelecendo as possíveis rotas químicas envolvidas.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Antibióticos Beta-lactâmicos

Os antibióticos β-lactâmicos destacam-se com relação às demais classes de relevância na clínica, sendo os mais utilizados em infecções bacterianas. Além da eficácia terapêutica, os antibióticos dessa classe sobressaem-se, pela, praticamente, ausência de toxicidade para organismos eucariotos, pois atuam na estrutura que existe unicamente em bactérias, o peptidoglicano, responsável pela rigidez e forma da parede celular das bactérias, além da proteção quando em meio hipotônico (SANTANA, 2018).

Depois da descoberta da penicilina em 1928, sendo o precursor dos β-lactâmicos, houve o contínuo e incessante desenvolvimento e pesquisa de novas classes e compostos, não só pela evolução terapêutica, mas também pela necessidade, que segue até hoje, causada pela resistência bacteriana. Os antibióticos desenvolvidos da classe dos dos β-lactâmicos são caracterizados pela presença, em sua estrutura química, do anel β-lactâmico conforme apresentado Figura 1, responsável pela ação antimicrobiana, e que pode se ligar a outros diferentes anéis, como anel tiazolidínico, nas penicilinas, ou o anel di-hidrotiazina, nas cefalosporinas (FERNANDES, 2013).

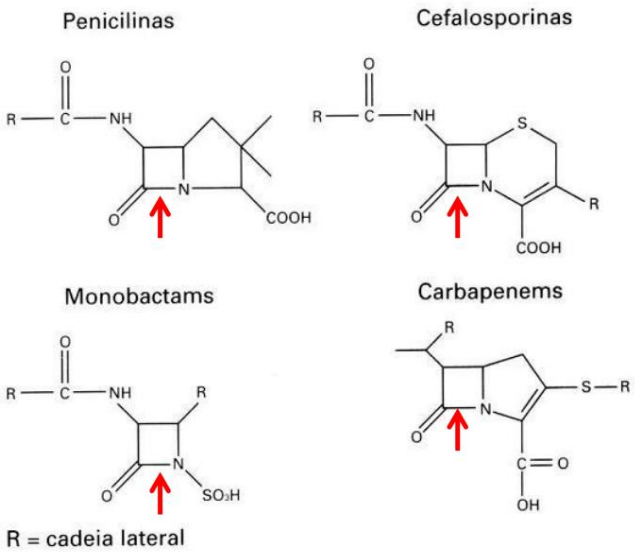

Figura 1. Grupo de compostos da classe dos β-lactâmicos, caracterizados pela presença do anel β-lactâmico indicado pela seta vermelha (Fonte: WILLIAMS, 1999).

O anel β-lactâmico inibe a síntese da parede celular bacteriana, em específico na síntese de camada de peptidoglicano, a partir da modificação da atividade da proteína ligadora de penicilina (PLP). Ainda, essa classe de antibióticos possui amplo espectro, no sentido de ser capaz de agir contra bactérias gram-positivas, que apresentam uma camada de peptidoglicano mais espessa, e bactérias gram-negativas, que possuem maior virulência e maior capacidade de se tornarem resistentes aos antibióticos, além de possuírem uma parede celular com camada de peptidoglicado mais fina (LEMOS et al., 2011). Diante desse contexto, os β-lactâmicos acabam sendo a classe de antibióticos mais utilizada para tratamento bacteriano. Avaliou-se que, nos Estados Unidos, no período de 2004 a 2014, 65.24% dos antibióticos injetáveis utilizados eram β-lactâmicos, sendo 47.49% do grupo das cefalosporinas (BUSH; BRADFORD, 2016).

3.1.1. Grupo das Cefalosporinas

Os compostos naturais cefalosporínicos, lançados a primeira vez em 1960 pelo farmacêutica americano Eli Lilly, são agentes bactericidas da classe dos β-lactâmicos, interferindo, portanto, na síntese da parede celular de peptidoglicano via inibição de enzimas envolvidas no processo de transpeptidação (OLARTE-LUIS et al., 2018). Atualmente são conhecidas cinco gerações de cefalosporinas, classificadas pela atividade antimicrobiana e características farmacocinéticas e farmacodinâmicas. A primeira geração, como a cefazolina, possui baixo espectro, tendo ação majoritária em bactérias gram-positivas. A segunda geração, como o cefaclor, com algumas diferenças estruturais e inclusão do metoximino na posição 7, proporcionando maior eficácia para bactérias gram-negativas do que para bactérias gram-positivas. A terceira geração, como a cefotaxima, surgiu no final da década de 70, com o foco na ação majoritária nas bactérias gram-negativas, atuando em algumas bactérias gram-positivas. A quarta geração, como a cefepima, sofre adição de grupos acídicos nas cadeias introduzidas na posição 7, gerando uma maior estabilidade na presença da enzima β-lactamase, principal responsável pela resistência bacteriana a partir da quebra do anel β-lactâmico. Por fim, a quinta e mais recente geração a ser lançada, como a ceftarolina, que possui enorme

potencial de ação, devido ao seu espectro de ação contra bactérias multirresistentes (ONG'UTI et al., 2022).

A maioria destes de última geração são utilizados apenas na forma farmacêutica pó para solução injetável (BAPTISTA, 2013 ; ARRUDA, 2019). As cefalosporinas podem ser caracterizadas pela presença, em sua molécula, do ácido 7-aminocefalosporânico (7-ACA), a partir do anel ß-lactâmico com cadeia radical fazendo união com o anel di-hidrotiazínico (Figura 2) (AZEVEDO, 2014).

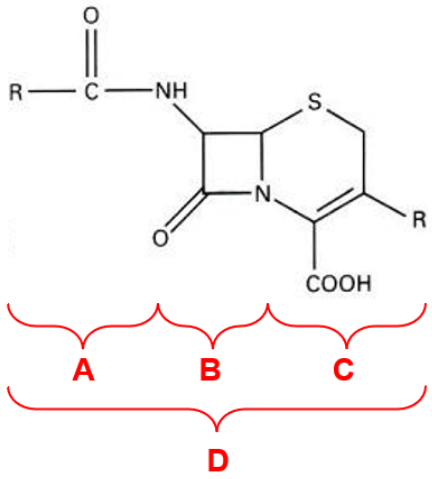

Figura 2. Estrutura básica das cefalosporinas, composta pelo anel ß-lactâmico (B) com cadeia radical (A) ligado ao anel di-hidrotiazínico (C), que formam ácido 7-aminocefalosporânico (D) (Fonte: Imagem adaptada de AZEVEDO, 2014).

3.2. Ceftarolina Fosamila

Pertencendo à quinta geração de cefalosporinas, sendo a geração mais recente da classe, a ceftarolina fosamila surge com grande potencial de ação contra bactérias multirresistentes. Alguns estudos *in vitro* mostraram capacidade bactericida contra 20 bactérias infecciosas gram-positivas, incluindo MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) e VRSA (Vancomycin Resistent *Staphylococcus aureus*), e 15 bactérias infecciosas gram-negativa, incluído várias espécies resistentes a penicilina, apresentando, dessa forma, uma atividade de amplo espectro (ZHANEL et al., 2009).

3.2.2 Características Físico-Químicas

A ceftarolina fosamila foi aprovado pelo FDA em 2010, sendo comercializado na forma de pó para solução injetável em frascos contendo 400 e 600 mg de ceftarolina fosamila (Teflaro®, Forest Laboratories.). Foi aprovado

pelo EMA em 2012, sendo comercializado na forma de pó para solução injetável em frascos contendo 600 mg de ceftarolina fosamila e L-arginina, como excipiente (Zinforo®, Pfizer Pharmaceuticals).

As características físico-químicas da ceftarolina fosamila (Pfizer Pharmaceuticals, 2017) (KARPIUK et al., 2017) são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Características físico-químicas do antibiótico.

Aparência	Pó branco amarelo-pálido a amarelo claro
Nome Químico	(6R,7R)-7-[(Z)-2-(4-carboxifenil)-2-(1H-tetrazol-5-il)acetil]-3-[(5-methyl-1,3-thiazol-4-yl)methyl]-8-oxo-4-[(1H-tetrazol-5-il)methyl]-5-tio-1-azabiciclo[4.2.0]octano-2-carboxilato de 1,2,3-propanotriamida.
Fórmula Molecular	$C_{22}H_{21}N_8O_8PS_4$
Massa Molecular	684.67 g/mol
pH (meio aquoso) – Pó injetável	2.0 – 3.0

A ceftarolina fosamila é um derivado de cefalosporina, contendo um grupo fosfato que a torna um pró-fármaco. É solúvel em água, o que facilita sua administração intravenosa. Ainda, tem uma alta taxa de ligação às proteínas plasmáticas, o que influencia sua farmacocinética (KAUSHIK, 2011). A estrutura química da ceftarolina fosamila é composta por um anel piridínico, um anel 1,3-Tiazol com atividade anti-SARM, um grupo oxima que oferece resistência a atividade da β-lactamase um grupo carboxílico, uma ligação 5,8 que proporciona inibição da atividade da transpeptidase, um anel 1,2,4 -Tiadiazol que facilita a penetração em bactérias gram-negativas e, por fim, o grupo fosfato, conforme apresentado na Figura 3. Os grupos químicos pertencentes a estrutura da ceftarolina fosamila são importantes para entendermos não só a atividade terapêutica do antibiótico, mas para investigar e propor fragmentações, bem como os fragmentos, e quebras químicas da estrutura (LAUDANO, 2011).

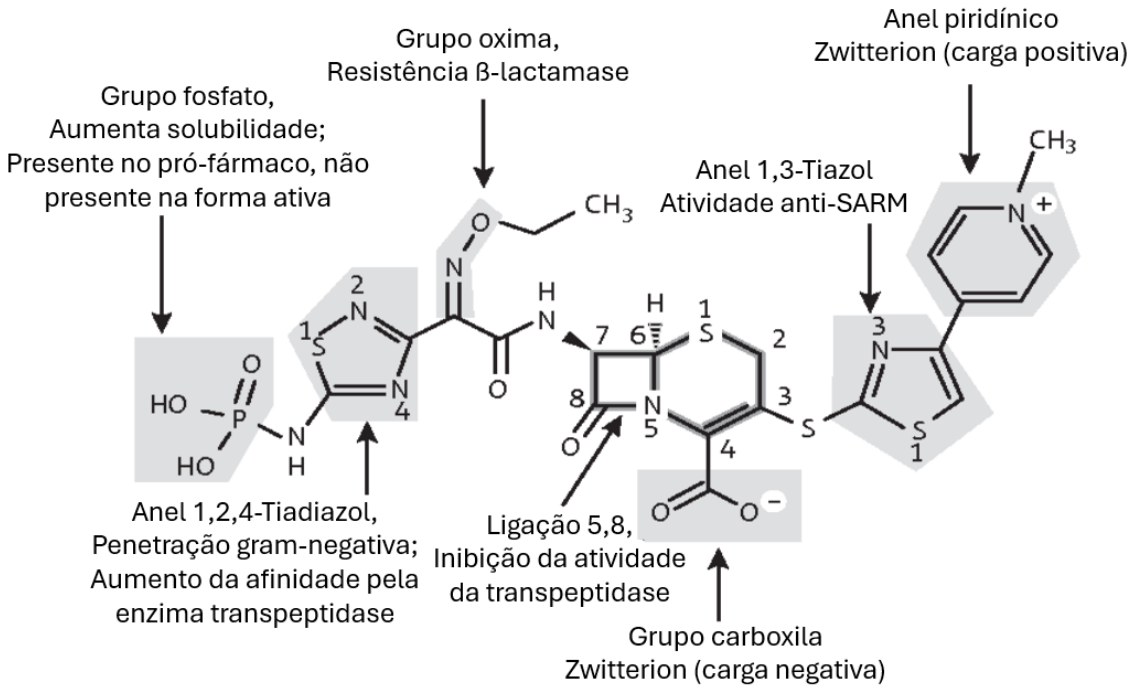

Figura 3. Estrutura química e descrição dos principais grupos químicos constituintes da estrutura química da Ceftarolina Fosamila (Fonte: LAUDANO, 2011, com tradução do inglês).

3.2.3 Farmacocinética e Mecanismos de Ação

O mecanismo de ação da ceftarolina consiste em ligar-se às proteínas de ligação a penicilina (PBP) e inibir a síntese de peptidoglicano, conforme o esperado da classe dos β-lactâmicos. O diferencial desse composto é a ligação, com alta afinidade, com a PBP, inibindo a atividade bioquímica com mais eficiência do que outros compostos da classe. A ceftarolina é administrada como pró-fármaco ceftarolina fosamila, a qual é rapidamente convertida pelas enzimas fosfatases do fígado ao seu metabolito bioativo, ceftarolina (Figura 4) (BARSKY et al., 2018, BIEK; CRITCHLEY; RICCOBENE; THYE, 2010).

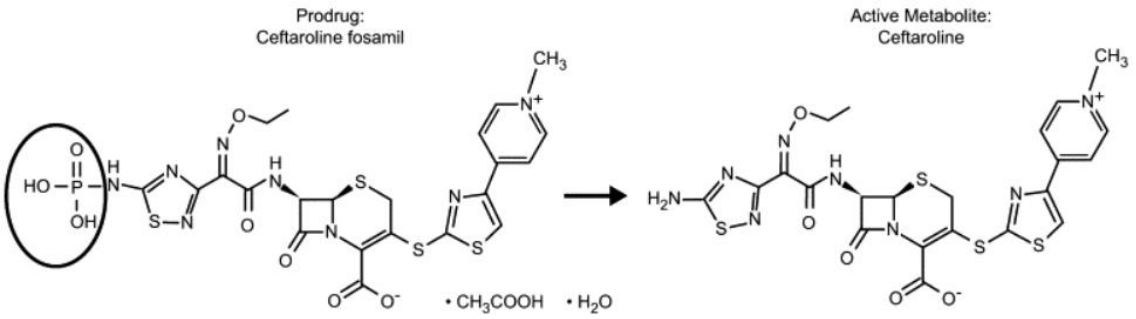

Figura 4. Bioconversão da ceftarolina fosamila em sua forma ativa (Fonte: YEE et al., 2011).

A ceftarolina fosamila é administrada exclusivamente por infusão intravenosa, com uma dose padrão de 600 mg a cada 12 horas, geralmente infundida ao longo de uma hora. Se distribui rapidamente pelo organismo, atingindo concentrações terapêuticas em vários tecidos e fluidos corporais, incluindo pele, pulmões e líquidos sinoviais, o que a torna eficaz contra infecções de pele e tecidos moles e pneumonia adquirida na comunidade. A ceftarolina é eliminada principalmente pelos rins, com cerca de 88% de ceftarolina da dose administrada excretada na urina, majoritariamente na forma inalterada. A meia-vida de eliminação da ceftarolina é de aproximadamente 2.5 horas em indivíduos saudáveis. Em pacientes com comprometimento renal, o ajuste de dose pode ser necessário para evitar acúmulo do medicamento (Bula do Medicamento - Pfizer, 2017).

3.2.4 Uso Terapêutico e Posologia

O medicamento Zinforo® é indicado para infecções de pele e partes moles complicadas (IPPMc), que compreende ao grupo de tecidos localizados entre a epiderme e as vísceras, tendo como exemplos músculos, vasos linfáticos, tendões, nervos, entre outros, pela ação contra o *Staphylococcus aureus*, principal bactéria gram-negativa causadora dessas infecções e que são extremamente comuns em pacientes já hospitalizados, onde os casos graves podem chegar a 4.3 – 10.5% dos episódios sépticos, sendo a causa de óbito de 1.3 – 7.2% desses indivíduos (MALHEIRO et al., 2017). Outra indicação terapêutica é para o tratamento de pneumonia adquirida na comunidade (PAC), combatendo o principal patógeno causador dessa infecção, o *Streptococcus pneumoniae* (incluindo casos com bacteremia concomitante), que é extremamente agressiva em crianças, cuja classe pediátrica, após deferimento

da ANVISA, foi recentemente contemplada ao público de indicação para uso da ceftarolina fosamila. Ainda, estima-se que em 2017, 1.117.779 de internações hospitalares que ocorreram com crianças menores de cinco anos devido a esse quadro infeccioso, pode ter ocorrido graças à PAC (NGOCHO, 2020).

Com relação ao público e posologia, o Zinforo® pode ser administrado em recém-nascidos, lactentes, crianças, adolescentes e adultos, onde a dose recomendada é de 600 mg, administrados a cada 12 horas por infusão intravenosa, durante 5 a 60 minutos (dose padrão), com reduções apropriadas para pacientes pediátricos. A duração do tratamento deve ser orientada pelo tipo de infecção a ser tratada, sua gravidade e resposta clínica do paciente, todavia para o tratamento de pacientes com IPPMc, confirmadas ou suspeitas, de serem causadas por *S. aureus*, a dose de Zinforo® é de 600 mg, administrada a cada 8 horas por infusão intravenosa, durante 120 minutos, sendo considerada dose elevada. Com relação ao preparo para infusão, pode ser utiliza bolsa de infusão de 250 mL, 100 mL ou 50 mL, conforme a dose recomendada, variando entre as concentrações 2.4 mg/mL, 5.0 mg/mL e 8.5 mg/mL. Um mL da solução reconstituída contém 30 mg de ceftarolina fosamila e a concentração da solução de infusão durante a preparação e administração não deve exceder 12 mg/mL de ceftarolina fosamila. Por fim, o limite máximo diário de Zinforo® é de 1.800 mg.

3.2.5 Orientações de Uso e Armazenamento

Conforme orientações do fabricante, o pó deve ser reconstituído com água para injeção e a solução resultante deve ser diluída imediatamente antes do uso. A solução reconstituída é amarela pálida livre de quaisquer partículas. Zinforo® pó deve ser reconstituído com 20 mL de água para injeção esterilizada. A solução reconstituída resultante deve ser agitada antes de ser transferida para um frasco ou bolsa de infusão e então deve ser imediatamente diluída em diluentes apropriados (PFZIER, 2014).

Zinforo®, pó para solução injetável, deve ser armazenado em temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C), protegido da luz e pode ser utilizado por 24 meses a partir da data de fabricação. Após a reconstituição em água para injeção, o frasco-ampola deve ser utilizado imediatamente. Segunda a bula do medicamento, o tempo total entre o início da reconstituição e a completa diluição em frasco ou bolsas de infusão não deve exceder 30 minutos. Por fim, a bula

indica que uma vez preparada com os diluentes indicados, como solução injetável de glicose 5% ou solução injetável de cloreto de sódio 0,9%, em frasco ou bolsa de infusão, a solução intravenosa deve ser administrada nas primeiras 6 horas após a preparação. A estabilidade físico-química foi demonstrada por até 12 horas de 2 °C a 8 °C e, uma vez retirado do refrigerador para a temperatura ambiente de 23 °C a 25 °C, o produto diluído deve ser usado dentro de 6 horas (PFIZER, 2014 ; RUSSO, 2017).

3.3 Histórico Regulatório e Distribuição no Brasil

No Brasil, o Zinforo ® foi registrado na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em 2014, pela AstraZeneca, categorizado pela classe regulatória de Medicamento Novo e, portanto, tendo registro regido pela antiga RDC Nº 60 de 2014 (Revogada pela RDC nº 200 de 2017), sob a forma farmacêutica de pó para solução para infusão contendo 600 mg de ceftarolina fosamila em embalagens com 10 frascos-ampolas. Desde 2017, a detentora do registro é a Pfizer Brasil LTDA, que vem anualmente protocolando mudanças pós-registro para alterações na posologia, na avaliação de impurezas, na redução de prazo de validade, na indicação terapêutica e na ampliação de uso, sendo a alteração mais recente, deferida em agosto de 2022, a inclusão da população pediátrica (recém-nascidos, lactentes, crianças e adolescentes) ao público indicado para tratamento e que anteriormente comtemplava somente os adultos, além de manter a manutenção do registro a partir de protocolos de atualização de rótulo conforme publicações de normas e diretrizes vigentes.

Com relação a disponibilidade do medicamento, hospitais do setor privado estão aptos para realizar a compra quando estritamente necessário. Já a distribuição pelo Sistema Único de Saúde (SUS) é limitada, uma vez que o medicamento não é considerado um medicamento essencial e, portanto, não integra a lista do Rename (Relação Nacional de Medicamentos Essenciais). A inclusão de medicamentos de alto custo, como Zinforo®, no SUS depende de protocolos e diretrizes específicas de tratamento e, geralmente, é restrita a casos muito específicos, como infecções graves ou resistentes a outros tratamentos. Para a prescrição no SUS, o Zinforo® pode ser disponibilizado mediante solicitação via Componente Especializado da Assistência Farmacêutica (CEAF). (ANVISA, 2022).

3.4 Controle de Qualidade de Medicamentos

Perpassando todos os estágios e etapas de pesquisas clínicas para avaliação da eficácia terapêutica, necessários no desenvolvimento e registro de um novo fármaco, existe também a necessidade do desenvolvimento de metodologias que garantam o controle de qualidade do medicamento e da estabilidade do seu composto ativo, seja quanto matéria-prima ou quanto produto acabado. As indústrias farmacêuticas são regidas por compêndios oficiais como as farmacopeias*, guidelines* e demais diretrizes que são reconhecidas, referenciadas e exigidas por agências de vigilância sanitária, como a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), EMA (European Medicines Agency), FDA (Food and Drug Administration), entre outros.

A pesquisa experimental realizada em universidades, grupos de pesquisa ou em iniciativas privadas são de extrema importância para a definição e elaboração de monografias que compõem essas farmacopeias ou respaldo técnico para sustento de *guidelines*, além da própria ferramenta de produção bibliográfica. Dessa forma, a pesquisa, independente do âmbito que for, tem grande importância para estudos de estabilidade, desenvolvimento de métodos analíticos de identificação, quantificação ou caracterização de compostos, e demais aportes que garantam o avanço e a otimização no conhecimento de alguma molécula alvo. O conhecimento é a grande chave para garantir maior eficácia e maior segurança na introdução de novas substâncias em rotinas hospitalares e na comunidade, sobretudo o conhecimento gerado a partir de experimentações que mimetizem as condições reais da rotina hospitalar e da utilização clínica.

3.4.1. Estudos de Estabilidade

Para registro e pós-registros de medicamentos no Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece a RDC nº 318 de 6 de novembro de 2019, que determina os critérios para a realização destes estudos. Além disso, a ANVISA também disponibiliza o Guia de Estudos de Estabilidade Nº 28 de 2019, como material auxiliar na condução dos estudos, e a RDC nº 53 de 4 de dezembro de 2015, que estabelece os parâmetros para notificação, identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos (BRASIL, 2019).

A estabilidade é uma característica de grande impacto no ciclo de vida dos medicamentos, fornecendo evidências sobre como essas substâncias poderão variar com o tempo a partir de influência de fatores ambientais como temperatura, luz e umidade. Além de exercerem o controle de qualidade necessário para a fabricação de novos medicamentos, os estudos de estabilidade também são uma forma de monitoramento das fórmulas existentes, evitando, assim, possíveis eventos adversos. Dentro da aplicação clínica e de pesquisa e desenvolvimento, se faz necessário os estudos de estabilidade, que se dividem entre: acelerado, de longa duração ou de acompanhamento (LEITE, 2005). No estudo de estabilidade acelerado, cujo um dos objetivos é avaliar possíveis alterações físicas, químicas e microbiológicas do insumo farmacêutico ativo (IFA) ou medicamentos, em condições forçadas de armazenamento e efeitos causados por eventos fora dos cuidados de conservação indicados, estão contemplados os estudos de degradação forçada, que serão tratados no presente trabalho, e que almejam a geração de produtos de degradação, por meio da exposição do composto ou produto acabado a condições de estresse, como luz, temperatura, calor, umidade, hidrólise ácida/ básica, oxidação, entre outras, permitindo o desenvolvimento de métodos indicativos de estabilidade com especificidade e seletividade adequada, bem como fornecer informações acerca das possíveis rotas de degradação de um determinado produto (VON AHN, 2019).

Por fim, é a partir dos estudos de estabilidade, sobretudo o estudo de degradação forçada, que se torna possível conhecer, avaliar e definir o perfil de degradação dos compostos, sendo este definido como o conjunto de produtos de degradação observados no insumo farmacêutico ativo ou no medicamento quando exposto a determinadas condições extrema, objetivando identificar possíveis reações químicas em que a molécula possui maior suscetibilidade para gerar outros compostos senão o composto ativo e com atividade terapêutica. Ainda, o perfil de degradação, torna possível investigar o balanço de massa, a partir de relação percentual, que avalia o valor inicial do analito e os valores após as condições de estresse, relacionando a flutuação do teor com a formação dos seus produtos de degradação (FERRAZ, 2016).

3.4.2 Produtos de Degradação

Conforme definição do *guideline* ICH Q3B (R2), "*Impurities in New Drug Products*", publicado pela *European Medicines Agency* (EMA), produtos de degradação consistem em uma impureza resultante de uma alteração química na substância medicamentosa ocorrida durante a fabricação e/ou armazenamento do novo medicamento pelo efeito de, por exemplo, luz, temperatura, pH, água ou por reação com um excipiente e/ou o sistema de fechamento do recipiente imediato.

É a partir da identificação e avaliação dos produtos de degradação, através de técnicas analíticas de alta eficiência, como cromatografia líquida de alta eficiência e espectrometria de massas, que serão propostas as rotas químicas de degradação e cinética química envolvidas, auxiliando no conhecimento do perfil de degradação de um composto, permitindo a discussão sobres fatores envolvidos na formulação, estabilização e administração de fármacos (MARTIN, 1993 ; MEIRELLES, 2014). Por fim, o conhecimento de produtos de degradação suporta e auxilia a farmacovigilância, servindo como uma valiosa ferramenta para entender eventos adversos durante os tratamentos, como sinais toxicidade e falta de efetividade no combate a doenças.

3.5 Escassez de Dados Técnico-Científicos

Pesquisas experimentais no meio científico, a partir de estudos de estabilidade, são amplamente empregadas, devido a extrema importância de um maior conhecimento sobre medicamentos quando desafiados ao tempo e condições de estresse, para que seja possível estabelecer seus perfis de degradação e de impurezas, almejando conhecer a formação desses produtos que não só não exerçam nenhum potencial terapêutico, mas que possam apresentar toxicidade aos pacientes. No estudo de Johnsirani et al. (2017), foi avaliada a citotoxicidade *in vitro* dos produtos de degradação da niclosamida, sob nome comercial Niclocide®, gerados a partir de condições de *stress* térmico, hidrólise ácida e básica, oxidação e fotolise, e cujo resultado foi toxicidade em células alveolares, causada por dois produtos de degradação, e toxicidade em células neuronais, causada por três produtos de degradação. Existem diversas publicações sobre estudos de estabilidade de diferentes tipos de medicamentos

e que são o respaldo técnico e científico no que diz respeito, sobretudo, a segurança dos medicamentos, proporcionando discussão com relação a determinação posológica, de público-alvo, de validade e de condições de armazenamento.

Nesse sentido, para exemplificar a escassez de pesquisas e artigos publicados sobre estudos de estabilidade, sobretudo estudos de degradação forçada, e produtos de degradação da ceftoralina fosamila, tendo em vista que é a cefalosporina de quinta geração mais recentemente conhecida e comercializada, foram pesquisadas três palavras-chaves, em três diferentes idiomas (português, inglês e espanhol) e em três diferentes plataformas de base de dados científicos (*PubMed*, *ScienceDirect* e Periódicos Capes). Sobre o período da pesquisa bibliográfica, foi considerada desde a primeira publicação relatada nas bases de dados, ou seja, sem filtro de data inicial, até o ano de 2024, a fim de contemplar todas as publicações já realizadas sem determinação de período. Apenas cinco artigos objetivaram algum tipo de avaliação da ceftarolina fosamila a partir de estudo de degradação forçada (MORETTO et al., 2023), (KARPIUK et al., 2017), (SUMA et al. 2022), SUNEETHA; CHINA VENKANNA, 2013) e (JUNIOR et al., 2021). Dos cinco artigos, apenas dois objetivaram identificação de produtos de degradação e substâncias relacionadas, onde apenas um propôs rotas de degradação.

No trabalho de Karpiuk et al., 2017, é proposta, pela primeira vez, a rota química de degradação padrão da ceftarolina fosamila, ou seja, sem exposição a fatores de degradação, e, a partir disso, são propostos produtos de degradação bem como suas estruturas químicas. No trabalho, mais recente, de Moretto et al., 2023, além da validação do método de identificação da ceftarolina fosamila por HPLC-DAD, são propostas estruturas químicas de produtos de degradação a partir de espectrometria de massas, sem proposição de rotas químicas. Em nenhum dos estudos são propostas rotas químicas de degradação dos produtos de degradação sugeridos, objetivo do presente trabalho, refletindo a escassez de produção técnico-científica e, consequentemente, a urgência em práticas experimentais que investiguem e elucidem essa temática.

4. Capítulo I: Artigo Científico a ser submetido à publicação.

4.1 Artigo Científico:

O capítulo 4 desse documento é constituído por um artigo científico submetido à publicação, que no texto completo da dissertação defendida, ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 49 a 73. Trata-se da investigação do perfil de degradação da ceftarolina fosamila e do produto de degradação majoritário, propondo produtos de degradação e suas respectivas rotas químicas de degradação. As análises foram realizadas a partir de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-DAD) e espectrometria de massas (ESI-QTOF). Além disso, modelo *in silico* foi utilizado para correlacionar os resultados.

5. DISCUSSÃO GERAL

5. DISCUSSÃO GERAL

Diante da relevância de estudos que explorem experimentalmente a estabilidade de medicamentos, desafiando a partir das condições que mimetizem aquelas da rotina hospitalar conforme a realidade socioeconômica de cada instituição, no que tange a segurança de administração e eficácia terapêutica, o presente trabalho almejou investigar a estabilidade da ceftarolina fosamila nas apresentações pó injetável, reconstituída em água purificada e em diferentes concentrações (2.4 mg/mL, 5.0 mg/L e 8.5 mg/mL) da amostra diluída em soluções de glicose 5% e soro 0.9%, em condições de uso clínico (4ºC e 25ºC) e em condições de estresse térmico (40ºC e 60ºC) por diferentes tempos de exposição. Poucos estudos, conforme descrito no item 3.5, se aprofundaram na investigação da estabilidade da ceftarolina fosamila em todas as apresentações de uso clínico (pó seco, reconstituída e bolsas de infusão) e com foco em degradação forçada a partir de estresse térmico, propondo produtos e suas rotas de degradação.

A partir da análise preliminar por HPLC-DAD foi possível avaliar que amostra na apresentação pó (forma farmacêutica comercial) permaneceu estável, mesmo quando exposta a condições extremas (60°C por 72 horas). Isso está de acordo com a estabilidade esperada de pós secos, que geralmente mantêm a integridade química quando fabricados sob processos controlados de secagem e com a adição de excipientes estabilizadores (CHEN, et al., 2021). Ao reconstituir a amostra em água purificada e expô-la a temperaturas elevadas, é observado decaimento da ceftarolina fosamila e a formação de ceftarolina. Esse comportamento é atribuído à presença de água, que facilita reações de hidrólise, especialmente em temperaturas mais altas. A hidrólise é uma reação comum para compostos com grupos suscetíveis, como lactamas, ésteres e amidas, e o calor catalisa essa reação (MITCHELL, 2014). A estabilidade do pró-fármaco variou conforme a solução utilizada para diluição. Foi observado decaimentos de 65% até 90 % da ceftarolina fosamila na amostra diluída em solução de glicose 5% a 25°C e 40°C, respectivamente. Ainda, a concentração da amostra também parece influenciar na estabilidade, sendo a concentração de 2.4 mg/mL que ofereceu menor estabilidade para amostra diluída em solução de glicose. A glicose, sendo um composto mais complexo, parece influenciar mais

expressivamente para a degradação em comparação com o cloreto de sódio presente na solução salina 0.9%. Apesar disso, também foi observado decaimento da ceftarolina fosamila e formação de ceftarolina na amostra diluída em solução salina 0.9% na condição de uso clínico de 25ºC e de estresse térmico, de 40ºC.

O decaimento da ceftarolina fosamila e formação de ceftarolina quando reconstituída e diluída em soluções de glicose e salina para infusão, sobretudo nas condições de uso clínico, ou seja, conforme orientações de armazenamento do fabricante, não deve ocorrer precocemente. A bioconversão do pró-fármaco em fármaco deve ocorrer no organismo após a infusão, por meio de enzimas hepáticas, para o efeito terapêutico (KIANG, 2015). A partir dos resultados obtidos, a conversão precoce sugere degradação da ceftarolina fosamila, que é evidenciada pela formação do seu produto de degradação majoritário, a ceftarolina, e que pode ser acompanhada da formação de outros possíveis produtos, reforçando a importância do armazenamento em temperatura e pelo tempo adequado. A ceftarolina fosamila diluída, na concentração de 8.5 mg/mL, em ambas as soluções demonstrou ser estável na temperatura de 4ºC por 72h.

A análise por ESI-QTOF foi coerente com os achados da análise por HPLC-DAD no que se refere a decaimento da ceftarolina fosamila e formação de ceftarolina diante a exposição a condições de estresse térmico. Para proposição de produtos de degradação, foram investigados novos fragmentos nos espectros de massas quando comparados aos tempos zero. No espectro de massas da amostra reconstituída em água purificada exposta a 60ºC por 2h, foi possível identificar dois possíveis produtos de degradação *m/z* 303, oriundo do fragmento *m/z* 343 (pico base) e *m/z* 483, e formados a partir de clivagens e rearranjos facilitados pelo calor e presença de água. No espectro de massas da amostra diluída em solução salina 0.9% exposta a 40ºC por 72h, foi possível identificar um possível produto de degradação *m/z* 543 formado a partir da clivagem da cadeia lateral com grupamentos amina da ceftarolina, facilitada pelo calor e presença de água. Por fim, no espectrograma de massas da amostra diluída em solução de glicose 0.9% exposta a 60ºC por 72h, foi possível identificar dois possíveis produtos de degradação *m/z* 441, formado a partir de rearranjos facilitados pelo calor, e *m/z* 337. Para todos os produtos de degradação, as rotas de degradação foram propostas.

Como ferramenta complementar para identificação de possíveis produtos de degradação e proposição das rotas de degradação, o modelo *in silico* Zeneth 9.0 foi utilizado para comparativo com os achados na técnica de ESI-QTOF. Os resultados de predição do *software* foram convergentes com as demais análises realizadas no presente trabalho com relação a ceftarolina fosamila apresentar menor estabilidade quando diluída em solução de glicose 5%. O maior número de produtos de degradação preditos no modelo *in silico* foi a partir da parametrização que incluía glicose no processamento. Foi possível correlacionar o produto m/z 864 predito no modelo *in silico* com o fragmento identificado no espectro de massas da ceftarolina fosamila diluída em solução de glicose 5% exposta a 40ºC por 72h. A mesma estrutura química participa na rota de degradação proposta para os produtos *m/z* 441 e *m/z* 337.

A partir dos resultados, foi possível entender o comportamento, no que se refere à estabilidade, da ceftarolina fosamila em diferentes apresentações, expostas em diferentes temperaturas, por diferentes tempos. O armazenamento em condições adequadas são fundamentais para não só garantiar efeito terapêutico esperado, mas também evitar a formação de produtos de degradação que possam apresentar efeitos adversos e causar risco a saúde dos pacientes.

6. CONCLUSÃO

6. CONCLUSÃO

- As análises preliminares por HPLC-DAD apresentaram resultados coerentes, sendo possível observar e investigar o decaimento da ceftarolina fosamila e formação da ceftarolina;

- A partir das análises por HPLC-DAD e ESI-QTOF foi possível identificar que o medicamento na apresentação reconstituída em água e diluída, em diferentes concentrações, nas soluções de glicose e salina, é mais instável do que na apresentação de pó para reconstituição de diluição.

- O medicamento na apresentação diluída a 2,4 mg/mL em solução de glicose 5% foi a mais instável na condição de uso clínico (temperatura ambiente - 25ºC).

- A análise preliminar por HPLC-DAD correspondeu com os resultados obtidos por ESI-QTOF, corroborando para investigação da estabilidade do medicamento.

- Foram sugeridos os produtos de degradação *m/z* 303 e *m/z* 483, obtidos da amostra de ceftarolina fosamila reconstituída em água exposta; *m/z* 543 obtido da amostra de ceftarolina fosamila diluída em solução salina 0.9%; *m/z* 337 e *m/z 441* obtido da amostra de ceftarolina fosamila diluída em solução de glicose 5%.

- Foi possível evidenciar através das análises por ESI-QTOF que a formação dos produtos de degradação é indicativa de degradação da ceftarolina fosamila;

- Foram estabelecidas possíveis rotas de degradação da ceftarolina fosamila para formação dos produtos de degradação propostos;

- Foi possível correlacionar parcialmente os resultados da predição *in silico* com os resultados das análises de espectrometria de massas por ESI-QTOF.

7. REFERÊNCIAS

7. REFERÊNCIAS

ANTANA, R. Antibióticos beta-lactâmicos**. Curso Básico de Antimicrobianos Divisão de MI–CM–FMRP-USP**. pag, v. 3, 2018.

ARRUDA, C. J. M. et al. Revisão Bibliográfica de antibióticos beta-lactâmicos. **Revista Saúde em Foco**. nº 11, 982-995, 2019.

AZEVEDO, S. M. M. Farmacologia dos Antibióticos beta-lactâmicos. 2014, 70. **Dissertação de mestrado integrado**. Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Porto.

BAPTISTA, M. G. F. M. Mecanismo de Resistência aos Antibióticos. **Dissertação de mestrado**. 2013, 51. Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde, Lisboa.

BARSKY, E. E.; PEREIRA, L. M.; SULLIVAN, K. J.; WONG, A.; MCADAM, A. J.; SAWICKI, G. S.; PRIEBE, G. P.; GOOBIE, S. M. Ceftaroline pharmacokinetics and pharmacodynamics in patients with cystic fibrosis. **Journal of cystic Fibrosis**. 17, 25-31, 2018.

BIEK, D.; CRITCHLEY, I. A.; RICCOBENE, T. A.; THYE, D. A. Ceftaroline fosamil: a novel broad-spectrum cephalosporin with expanded anti-gram-positive activity. **Journal of antimicrobial chemotherapy**. 65, 9-16, 2010.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Antimicrobianos – Bases Teóricas e uso Clinico. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo1/cefalosporinas.htm. Acesso em: outubro/2022

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n° 166, de 24 de julho de 2017. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 25 de julho,2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n°318, de 6 de novembro de 2019. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília,

DF, 7 de novembro de 2019.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n°53, de 4 de dezembro de 2015. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 7 de dezembro de 2015.

FERNANDES, R; AMADOR, P.; PRUDÊNCIO, C. β-Lactams: chemical structure, mode of action and mechanisms of resistance. **Reviews and Research in Medical Microbiology**, v. 24, n. 1, p. 7-17, 2013.

FERRAZ, M. et al. Estudo teórico da relação ensaios de degradação forçada e estudo de estabilidade de farmácia e medicamentos. 2016.

GUIMARÃES, D. et al. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, p. 667-679, 2010.

ISKANDAR K. et al.Antibiotic discovery and resistance: the chase and the race. **Antibiotics** 2022, 11:182

JOHNSIRANI, P. et al. Isolation, characterization using LC-ESI-QTOF, NMR and in vitro cytotoxicity assay of niclosamide forced degradation products. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v. 136, p. 148-155, 2017.

JUNIOR, I. J. M. Desenvolvimento e validação de bioensaio para determinação de ceftarolina em pó para solução injetável – estudo preliminar de estabilidade. 2017. **Dissertação de mestrado**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre.

KARPIUK, I. et al. Identification and determination of related substances of ceftaroline fosamil in medicinal product by high performance liquid chromatography with diode array detection and tandem mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 145, p. 651-660, 2017.

KIANG, T. K. L, KYLE, J. W.; ENSOM, ENSOM, M. H.H. A critical review on the clinical pharmacokinetics, pharmacodynamics, and clinical trials of ceftaroline. **Clinical pharmacokinetics 54** 915-931, 2015

KLEINMAN, M. H. et al. In silico prediction of pharmaceutical degradation pathways: a benchmarking study. **Molecular Pharmaceutics**, v. 11, n. 11, p. 4179-4188, 2014.

LAUDANO, Joseph B. Ceftaroline fosamil: a new broad-spectrum cephalosporin. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 66, n. suppl_3, p. iii11-iii18, 2011.

LEMOS, C. et al. Avaliação in vitro da atividade antibacteriana em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas de extratos de Pariparoba. **VII EPCC–Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar**, Maringá, 2011.

Lhasa Limited Zeneth. Available at: Impurity And DegradantControl | Lhasa Limited. (accessed December 13, 2023

LIMA, C. et al. Mecanismo de resistência bacteriana frente aos fármacos: uma revisão. **CuidArte, Enferm**, p. 105-113, 2017.

MALHEIRO, L. F.; MAGANO, R.; FERREIRA, A.; SARMENTO, A.; SANTOS, L. Infecções da pele e de tecidos moles na unidade de terapia intensiva: estudo retrospectivo em um centro terciário. **Revista Brasileira de terapia intensiva.** 29(2), 195-205, 2017.

MARTIN, A. Kinetics, **physical pharmacy**, Physical chemical principles in the pharmaceutical science, LEA and FEBIGER Philadelphia. London, v. 286, n. 9, p. 12, 1993.

MCLAFFERTY, F. W. Mass spectrometric analysis. Molecular rearrangements. **Analytical chemistry**, v. 31, n. 1, p. 82-87, 1959.

MEIRELLES, Lyghia Maria Araújo. Estabilidade de medicamentos: estado da arte. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 11, n. 4, p. 06-26, 2014.

MORETTO, P. O. et al. Simultaneous monitoring of ceftaroline fosamil and its active form ceftaroline during stability study of commercial sample-a new stability-indicating HPLC method, drug decomposition in clinical use conditions and degradation products by LC-MS. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 46, n. 1-5, p. 56-66, 2023.

MURRAY, J. L. C. et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **The Lancet**, v. 399, n. 10325, p. 629-655, 2022.

NGOCHO, J. S.; HORUMPENDE, P. G.; JONGE, M. I.; MMBAGA, B. T. Inappropriate treatment of Community-acquired pneumonia among children under five years of age in tanzania. **Internatioanal Journal of Infectious Diseases.** 93 56-61, 2020.

PACIOS O. et al. Strategies to combat multidrug-resistant and persistent infectious diseases. **Antibiotics** 2020, 9:65.

PFIZER BRASIL Bula Zinforo® (Ceftarolina fasomila). Disponível em: https://www.pfizer.com.br/sites/default/files/inline-files/Zinforo_Profissional_de_Saude_22.pdf. Acesso em: outubro/2022

PHELIPPIN, D. O perfil de utilização de antimicrobianos em um hospital: uma análise de custos. 2016. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo.

REYGAERT, W. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. **AIMS microbiology**, v. 4, n. 3, p. 482, 2018.

RUSSO, A. Ceftarolina fosamila (Zinforo®) para infecções da pele e de tecidos moles, e para pneumonia adquirida na comunidade. **Farmacoterapêutica**, v. 21, n. 02, p. 12-14, 2017.

SEFTON, A. Mechanisms of antimicrobial resistance. **Drugs**, v. 62, n. 4, p. 557-566, 2002.

THEURETZBACHER U. et al. Analysis of the clinical antibacterial and antituberculosis pipeline. **Lancet Infect Dis** 2019, 19:e40-e50.

VIAENE, E. et al. Comparative stability studies of antipseudomonal β-lactams for potential administration through portable elastomeric pumps (home therapy for cystic fibrosis patients) and motor-operated syringes (intensive care units). **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 46, n. 8, p. 2327-2332, 2002.

VON AHN, A. Avaliação do perfil de degradação do fármaco cefalexina na forma farmacêutica cápsula. 2019.

WILLIAMS, J. D. β-lactamases and β-lactamase inhibitors. **International journal of antimicrobial agents**, v. 12, p. S3-S7, 1999.

YEE, C. et al. Ceftaroline: a Cephalosporin with Anti-MRSA Activity. **Clinical Microbiology Newsletter**, v. 33, n. 21, p. 161-169, 2011.

ZAIKIN, V.; HALKET, J. M. A handbook of derivatives for mass spectrometry. **IM publications**, 2009.

ZHANEL G. G. et al. Ceftaroline: a novel broad-spectrum cephalosporin with activity against meticillin-resistant Staphylococcus aureus. **Drugs**, 2009.