

AVALIAÇÃO *IN SILICO* DOS PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO DO FÁRMACO BILASTINA

DOUGLAS DOS SANTOS PORTO¹; LISIANE BAJERSKI²; FÁVERO
REISDORFER PAULA³; CLÉSIO SOLDATELI PAIM⁴

¹Universidade Federal do Pampa – douglasporto.aluno@unipampa.edu.br

²Universidade Federal do Pampa – lisianebajerski@unipampa.edu.br

³Universidade Federal do Pampa – faveropaula@unipampa.edu.br

⁴Universidade Federal do Pampa – clesiopaim@unipampa.edu.br

1. INTRODUÇÃO

A bilastina é um fármaco antagonista dos receptores H1 da histamina, de segunda geração e não-sedativo, aprovado para o tratamento de rinite alérgica e urticária. Foi desenvolvido pela Faes Farma (Bilbau, Espanha) e no Brasil é produzido pela Takeda Pharma, com o nome comercial de Alektos® e Alektos® Ped, nas formas farmacêuticas de comprimido de 20 mg e de xarope (2,5 mg/mL), respectivamente (RIDOLO, *et al.*, 2015; TAKEDA, 2020).

Um produto de degradação pode ser classificado como uma impureza farmacêutica orgânica presente no insumo ou produto farmacêutico, podendo surgir no processo de produção e/ou armazenamento (BRASIL, 2015). Por mais desafiador que seja, as indústrias farmacêuticas devem ter o controle dessas impurezas, uma vez que são produtos químicos indesejáveis e podem alterar características farmacocinéticas e farmacodinâmicas dos fármacos, bem como apresentar alguma toxicidade.

A identificação e elucidação das impurezas farmacêuticas permite a avaliação e predição de seu potencial carcinogênico e/ou genotóxico. Os estudos *in silico* são técnicas que analisam, simulam e predizem a toxicidade de substâncias a partir de um *software* computacional, podendo ser utilizada em combinação com metodologias *in vitro* e *in vivo* (MYATT *et al.*, 2018). Com isso, o objetivo desse estudo foi avaliar os produtos de degradação relacionados a bilastina a partir de métodos *in silico*.

2. METODOLOGIA

Foi realizado uma pesquisa de literatura nos principais bancos de dados online, como Periódicos Capes, Google Acadêmico, *Science Direct* e *Microsoft Academic*, com o objetivo de pesquisar estudos de estabilidade e degradação forçada do fármaco para verificar se nos estudos encontrados haveria produtos de degradação formados e se tais produtos tiveram sua estrutura química elucidada. A predição *in silico* com a finalidade de verificar riscos teóricos de toxicidade proveniente dos produtos de degradação relacionados a bilastina foi realizada em três *softwares*, disponíveis gratuitamente. O *software OSIRIS Property Explorer* permitiu avaliar e prever o potencial mutagênico, tumorigênico, irritante e sobre o sistema reprodutivo de cada um dos produtos de degradação, sendo a sua resposta variando entre não, médio ou alto risco.

O segundo *software* utilizado foi o VEGA, que avaliou os riscos de carcinogenicidade e hepatotoxicidade das impurezas a partir do modelo IRFMN. Os resultados do *software* foram expressos em não-(carcinogênico ou hepatotóxico),

provável não-(carcinogênico ou hepatotóxico), carcinogênico ou hepatotóxico ou sem resultados.

Foi acessado o site do terceiro *software* utilizado, o *ProTox-II* (https://tox-new.charite.de/protox_II/), e a predição da toxicidade dos produtos de degradação foi realizada. Os parâmetros selecionados para avaliação foram: hepatotoxicidade, imunotoxicidade e citotoxicidade, onde as respostas para cada uma das estruturas variaram entre ativo ou inativo, para provável tóxico ou não tóxico, respectivamente.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudos reportando o desenvolvimento e validação de métodos analíticos para determinar a bilastina foram encontrados na literatura, os quais apresentavam estudos de degradação forçada do fármaco. Os três estudos (MOTTA *et al.*, 2020; OUAREZKI *et al.*, 2019; TERZIĆ *et al.*, 2016) evidenciaram a degradação do fármaco em certas condições de estresse, contudo, em apenas dois deles houve a purificação e elucidação dos produtos formados. Ouzareski e colaboradores (2019) elucidou um produto de degradação obtido em condição de estresse oxidativa (H_2O_2 30% (v/v)). Motta e colaboradores (2020) também evidenciaram um produto de degradação nas mesmas condições de estresse oxidativa, sendo que ambos os estudos elucidaram e sugeriram a mesma molécula como o produto de degradação formado.

Além disso, no estudo de Motta e colaboradores (2020) foi observado um pico adicional no cromatograma quando uma concentração maior de solução de bilastina foi submetido a condição de estresse oxidativa. O produto de degradação adicional foi purificado e sua estrutura química elucidada e sugerida. Os produtos foram identificados como produto de degradação (PD) 1 e 2 e estão demonstrados na figura 1 A e B, respectivamente. Não foram encontrados outros produtos de degradação com sua estrutura química elucidada na literatura.

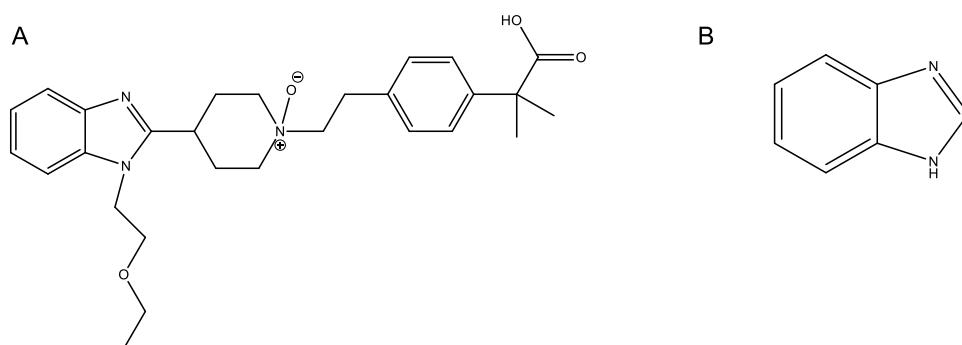


Figura 1. Estrutura química dos produtos de degradação. A) PD 1; B) PD 2.

A tabela 1 expõe os resultados obtidos avaliados no *software OSIRIS Property Explorer*, onde apenas o PD 1 não apresentou risco de apresentar toxicidade mutagênica, tumorigênica, irritante ou no sistema reprodutivo. Contudo, PD 2 apresentou risco alto de mutagenicidade, sem apresentar risco para os outros parâmetros avaliados.

A tabela 2 mostra os resultados da predição *in silico* no *software VEGA* que demonstrou um potencial risco de carcinogenicidade proveniente da molécula do PD 1, e para hepatotoxicidade não houve resultados. O PD 2 apresentou um resultado de provável não-carcinogênico, todavia, um alerta de risco de hepatotoxicidade.

A tabela 3 apresenta os resultados da avaliação pelo *software ProTox-II*, na qual os resultados permaneceram em sincronia com os outros *softwares* utilizados. O PD 1 demonstrou isento de hepatotoxicidade, citotoxicidade e imunotoxicidade. Os resultados do PD 2 não evidenciaram risco de citotoxicidade e imunotoxicidade, porém o risco de hepatotoxicidade foi positivo, assim como demonstrado no *software VEGA*.

Tabela 1. Resultado da predição de toxicidade obtido pelo *software OSIRIS Property Explorer*.

PD	Risco de toxicidade			
	Mutagênico	Tumorigênico	Irritante	Efeito Reprodutivo
1	-	-	-	-
2	+++	-	-	-

Resultados expressos em: (-) não; (++) médio ou (+++) alto.

Tabela 2. Resultado da predição de toxicidade obtido pelo *software VEGA*.

PD	Risco de toxicidade	
	Carcinogenicidade	Hepatotoxicidade
1	+	-
2	!	+

Resultados expressos em: (Ø) não-(carcinogênico/hepatotóxico); (!) provável não-(carcinogênico/hepatotóxico); (+) carcinogênico/hepatotóxico; (-) sem resultado.

Tabela 3. Resultado da predição de toxicidade obtido pelo *software ProTox-II*.

PD	Risco de toxicidade		
	Hepatotoxicidade	Citotoxicidade	Imunotoxicidade
1	-	-	-
2	+	-	-

Resultados expressos em: (+) ativo; (-) inativo.

Os resultados obtidos na avaliação da toxicidade dos produtos de degradação do fármaco ficaram em concordância com o estudo de Motta e colaboradores (2020). O PD 1, identificado como *bilastine N-oxide*, é formado na presença de H₂O₂ uma vez que as aminas terciárias são susceptíveis a oxidação, não apresentou risco de toxicidade. O PD 2 identificado como 1[H]benzimidazol, é um farmacóforo muito presente nos fármacos da classe dos benzimidazóis, apresentou um risco de mutagenicidade. Um estudo *in silico* (SILVA *et al.*, 2011) avaliou o potencial tóxico dessa molécula, e os autores concluíram que o benzimidazol, apesar de apresentar características farmacológicas, pode ser considerado um alerta estrutural pois é capaz de induzir danos no cromossomo.

O PD 1 apresentou risco de carcinogenicidade já que alguns derivados do benzimidazol, principalmente os que apresentaram ligação N-óxido na sua

estrutura, demonstraram potencial de dano ao DNA interrompendo a replicação da fase S do ciclo celular, contudo, são capazes de inibir mais fortemente a atividade da topoisomerase I, promovendo danos ao material genético das células tumorais (Świątkiewicz *et al.*, 2016).

4. CONCLUSÕES

Ao submeter os produtos de degradação para avaliação *in silico* nos três softwares utilizados, concluímos que o PD 1, abordado e avaliado nesse estudo, apresentou-se ser mais seguro em relação ao PD 2, uma vez que apresentou uma menor quantidade de resultados positivos na predição toxicológica, permitindo uma avaliação estrutural futura, uma vez que estudos mostram que, devido ao ligante N-óxido na estrutura, a molécula pode apresentar certa característica antitumoral.

Todavia, são necessários mais estudos para que se entenda melhor as possíveis toxicidades provenientes dos produtos de degradação relacionado a bilastina, garantindo assim que o fármaco e o medicamento sejam disponibilizados com segurança e qualidade adequadas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA. **Resolução N° 57, de 17 novembro 2009. Dispõe sobre o regime de insumos farmacêuticos ativos e das outras providências.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 17 nov. 2009.
- GOLAN, D.; *et al.* **Princípios de Farmacologia. A Base Fisiopatológica da Farmacologia.** Local de Edição: Guanabara Koogan, 3ª edição, 2014.
- MOTTA, P. R. *et al.* Bilastine: Quantitative Determination by LC with Fluorescence Detection and Structural Elucidation of the Degradation Products Using HRMS. **Journal of AOAC INTERNATIONAL**, v. 103, n. 6, p. 1451–1460, 2020.
- MYATT, G. J.; *et al.* In silico toxicology protocols. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 96, n. April, p. 1–17, 2018.
- OUAREZKI, R.; GUERMOUCHE, S.; GUERMOUCHE, M. H. Degradation kinetics of Bilastine determined by RP-HPLC method and identification of its degradation product in oxidative condition. **Chemical Papers**, v. 74, n. 1133-42, 2019.
- RIDOLO, E.; *et al.* Bilastine: New insight into antihistamine treatment. **Clinical and Molecular Allergy**, v. 13, n. 1, p. 1–6, 2015.
- SILVA, V. B. *et al.* Toxicophoric and Metabolic In Silico Evaluation of Benzimidazole and Phenylbenzamide Derivatives with Potential Application as Anticancer Agents. **Drug Metabolism Letters**, v. 5, n. 4, p. 267 – 275, 2011.
- ŚWIĄTKIEWICZ, K. B. *et al.* Biological evaluation of the toxicity and the cell cycle interruption by some benzimidazole derivates. **Tumor Biol.**, v. 37, p. 11135–11145, 2016.
- TAKEDA PHARMA LTDA, 2020. **ALEKTOS®.** Bula online. São Paulo, 2020. Acessado em 23 jul. 2021. Disponível em https://www.takeda.com/491ccc/siteassets/pt-br/home/what-we-do/produtos/bula-alektos-ped_0320_vps.pdf
- TERZIĆ, J.; *et al.* Application of Analytical Quality by Design concept for bilastine and its degradation impurities determination by hydrophilic interaction liquid chromatographic method. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 125, p. 385-393, 2016.