

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
CAMPUS AVANÇADO GOVERNADOR VALADARES
CURSO DE FARMÁCIA**

Letícia de Almeida Freitas

Impurezas de nitrosaminas em medicamentos: um panorama geral

**Governador Valadares
2023**

Letícia de Almeida Freitas

Impurezas de nitrosaminas em medicamentos: um panorama geral

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção de título de bacharel em Farmácia, na Universidade Federal de Juiz de Fora - *Campus* Avançado Governador Valadares.

Orientadora: Prof.^a Dra. Andréia Peraro do Nascimento

Governador Valadares

2023

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Almeida Freitas, Letícia.

Impurezas de nitrosaminas em medicamentos: : um panorama geral / Letícia Almeida Freitas. -- 2023.

37 p. : il.

Orientadora: Andréia Peraro Nascimento

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Avançado de Governador Valadares, Instituto de Ciências da Vida - ICV, 2023.

1. Impurezas. 2. Nitrosaminas. 3. Medicamentos. I. Peraro Nascimento, Andréia, orient. II. Título.

LETÍCIA DE ALMEIDA FREITAS

Impurezas de nitrosaminas em medicamentos: um panorama geral

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção de título de bacharel em Farmácia, na Universidade Federal de Juiz de Fora - *Campus Avançado Governador Valadares*.

Aprovada em 27 de junho de 2023

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Andreia Peraro do Nascimento - Orientador
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Leonardo Meneghin Mendonça
Universidade Federal de Juiz de Fora

Ma. Mariana de Almeida Rosa Rezende
Universidade Federal de Juiz de Fora

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado forças e colocado pessoas maravilhosas em minha vida.

A minha mãe que sempre foi meu exemplo de coragem e quem me proporcionou a oportunidade de cursar uma faculdade. Obrigada mãe, por toda a dedicação e sacrifício.

Aos meus amigos da graduação representados aqui por Mariana, Rodolfo, Ana, Anne e Mariane. Agradeço por me ajudarem a continuar quando eu não era capaz. Se cheguei até aqui, é mérito da nossa parceria.

Aos meus melhores amigos, Lucas e Felipe, por deixarem minha vida mais leve e me fazer sorrir em momentos que era tudo tão pesado e eu só queria chorar. Obrigada por existirem.

Aos meus professores, que ao longo da minha trajetória acadêmica me incentivaram a continuar me esforçando, tiveram paciência e acreditaram em mim, quando eu achava que não valia a pena. Em especial as professoras Andréia, Juliana e Regina.

Ao meu pai por se fazer presente em um dos momentos mais solitários da minha vida.

Aos amigos que fiz na minha entrada no mercado de trabalho, agradeço a vocês pela paciência em me ensinar e por enxergarem um potencial em mim que eu jamais cogitei existir. Estou começando a ver que eu sou capaz, fica aqui meus sinceros agradecimentos por todo o apoio.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para o sucesso deste trabalho, meu mais profundo agradecimento.

RESUMO

Em 2018, medicamentos com valsartana foram revisados devido à contaminação pela impureza NDMA, pertencente à classe de nitrosaminas que são conhecidas pelo potencial carcinogênico. Este estudo busca compreender os riscos associados à presença de nitrosaminas em medicamentos, abordando seus aspectos químicos e toxicológicos. Foi realizada uma análise documental em sites de autoridades regulatórias e bases científicas. A presença de impurezas em medicamentos afeta a sua segurança, qualidade e eficácia. Com o intuito de harmonizar as regulamentações e promover um padrão de qualidade global, o ICH surgiu em 1990 e desde então vários guias para avaliação e controle de impurezas foram elaborados. As nitrosaminas são impurezas mutagênicas altamente potentes e são descritas como parte do “grupo de preocupação” do guia M7 do ICH. Devido ao seu potencial mutagênico, os limites de TTC não são aplicáveis aos compostos pertencentes a este grupo. E um teste de mutagenicidade *in vitro*, o teste de mutação reversa bacteriana, pode ser necessário para determinar o potencial mutagênico e a estratégia de controle a ser adotada para esses compostos. As nitrosaminas são uma classe de compostos caracterizados por um grupo nitroso ligado a um grupo funcional amina. Sua genotoxicidade depende de ativação metabólica, o que ocorre via alfa-hidroxilação por enzimas dependentes do citocromo P450, onde são gerados carbocátions ou compostos diazônios que são altamente reativos e possuem a capacidade de alquilar macromoléculas celulares como DNA, RNA e cromossomos. As nitrosaminas são formadas por uma ligação N-N conhecida como *N*-nitrosação, onde um grupo funcional nitroso é introduzido em uma molécula contendo NH (por exemplo, aminas) por um agente nitrosante sob determinadas condições de reação. A formação de nitrosaminas pode ocorrer a partir de diversas fontes, como durante a síntese do IFA (como no caso da valsartana), nas interações entre fármacos e excipientes (metformina) ou devido à instabilidade do medicamento (ranitidina). Portanto, é necessária uma avaliação de risco detalhada, considerando desde a síntese do IFA até o processo produtivo do produto acabado, a fim de estabelecer limites aceitáveis e desenvolver estratégias de controle para essas impurezas, que representam uma questão de saúde pública.

Palavras-chave: Nitrosamina. Mutagênico. Impurezas. *N*-nitrosação.

ABSTRACT

In 2018, medicines containing valsartan were reviewed due to contamination by an impurity called NDMA, which belongs to the class of nitrosamines known for their carcinogenic potential. This study aims to understand the risks associated with the presence of nitrosamines in medications, including their chemical and toxicological aspects. A documentary analysis was conducted on regulatory authority websites and scientific databases. The presence of impurities in medications affects their safety, quality, and efficacy. In order to harmonize regulations and promote a global standard of quality, the ICH was established in 1990, and since then, several guidelines for the evaluation and control of impurities have been developed. Nitrosamines are highly potent mutagenic impurities and are described as part of the "concern group" in the ICH M7 guideline. Due to their mutagenic potential, the TTC limits are not applicable to compounds belonging to this group. An in vitro mutagenicity test, the bacterial reverse mutation test, may be necessary to determine the mutagenic potential and the control strategy to be adopted for these compounds. Nitrosamines are a class of compounds characterized by a nitroso group linked to an amino functional group. Their genotoxicity depends on metabolic activation, which occurs via alpha-hydroxylation by cytochrome P450-dependent enzymes, generating highly reactive carbocations or diazonium compounds capable of alkylating cellular macromolecules such as DNA, RNA, and chromosomes. Nitrosamines are formed through a N-N bond known as N-nitrosation, where a nitroso functional group is introduced into a molecule containing NH (e.g., amines) by a nitrosating agent under specific reaction conditions. The formation of nitrosamines can occur from various sources, such as during the synthesis of the active pharmaceutical ingredient (e.g., valsartan), drug-excipient interactions (e.g., metformin), or due to drug instability (e.g., ranitidine). Therefore, a detailed risk assessment is necessary, considering the entire process from the synthesis of the active pharmaceutical ingredient to the production of the finished product, in order to establish acceptable limits and develop control strategies for these impurities, which represent a public health issue.

Keywords: Nitrosamine. Mutagenic. Impurities. N-nitrosation.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|------|---|
| CPNP | 1-ciclopentil-4-nitrosopiperazina |
| DNA | Ácido desoxirribonucleico |
| EMA | European Medicines Agency |
| IARC | International Agency for Research on Cancer |
| ICH | International Council for Harmonisation of Technical Requirements for |
| IFA | Insumo Farmacêutico Ativo |
| LTL | Less Than Lifetime |
| MNP | 1-metil-4-nitrosopiperazina |
| NDEA | N-nitrosodietilamina |
| NDMA | N-nitrosodimetilamina |
| PA | Produto acabado |
| pH | Potencial hidrogeniônico |
| RNA | Ácido ribonucleico |
| TTC | Threshold of Toxicological Concern |

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 7 |
| 2. METODOLOGIA | 9 |
| 3. IMPUREZAS NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA..... | 10 |
| 3.1 Impurezas mutagênicas na indústria farmacêutica | 12 |
| 4. NITROSAMINAS | 15 |
| 4.1. Carcinogenicidade de nitrosaminas | 16 |
| 4.2. Formação de nitrosaminas..... | 17 |
| 4.2.1. Formação de nitrosaminas em bloqueadores dos receptores da angiotensina II (BRAs) contendo anel tetrazol | 20 |
| 4.2.2. Formação de nitrosaminas em antagonistas dos receptores histamina-2 (H2)..... | 21 |
| 4.2.3. Formação de nitrosaminas em antidiabéticos | 22 |
| 4.2.4. Formação de nitrosaminas em antimicrobianos..... | 23 |
| 5. AVALIAÇÃO E CONTROLE DE NITROSAMINAS | 24 |
| 5.1. Etapa 1: Avaliação de Risco | 25 |
| 5.2. Etapa 2: Testes confirmatórios..... | 28 |
| 5.3. Etapa 3: Alterações pós-registro | 28 |
| 6. LIMITES DE ACEITAÇÃO PARA NITROSAMINAS..... | 29 |
| 7. CONCLUSÃO | 30 |
| REFERÊNCIAS | 31 |

1. INTRODUÇÃO

Em meados de 2018, a *European Medicines Agency* (EMA) emitiu um comunicado relatando a necessidade de revisão de medicamentos contendo o insumo farmacêutico ativo (IFA) valsartana fabricado pela empresa Zhejiang Huahai Pharmaceuticals. Essa revisão foi motivada pela detecção de uma impureza conhecida como *N*-nitrosodimetilamina (NDMA), a qual pertence à classe de compostos denominada nitrosaminas (EMA, 2018).

No entanto, a detecção da presença da nitrosamina NDMA em valsartana não se restringiu a apenas um fabricante. Nos dias seguintes, foram identificadas NDMA em mais duas fabricantes de valsartana. Além disso, também foi encontrada uma segunda nitrosamina, a *N*-nitrosodietilamina (NDEA), posteriormente detectada em losartana e ibersartana (EMA, 2020).

É importante ressaltar que os casos de contaminação por nitrosaminas em medicamentos não se limitaram apenas às "sartanas". A formação de nitrosaminas é um fenômeno complexo e abrangente, que pode ocorrer em diversas classes de medicamentos. Ao longo de um período de dois anos após o primeiro caso de contaminação, a EMA relatou a presença de nitrosaminas em lotes de pioglitazona, ranitidina, metformina, rifampicina, rifapentina e outros medicamentos (EMA, 2020).

Ao longo das últimas décadas, as nitrosaminas têm sido amplamente estudadas devido ao seu potencial carcinogênico. Elas têm sido detectadas em várias fontes, como água, alimentos, ar, cosméticos, bebidas e tabaco, levantando preocupações significativas sobre sua presença e exposição (RATH; CANAES, 2009).

Classificadas como prováveis carcinógenos humanos pela *International Agency for Research on Cancer* (IARC) em 1980, as nitrosaminas são compostos *N*-nitrosos considerados parte de um grupo de agentes cancerígenos mutagênicos de alta potência e descritos como parte de um "grupo de preocupação" pelo *International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use* (ICH) no guia M7, que trata da avaliação e controle de impurezas mutagênicas (EMA, 2020).

A presença de impurezas, como no caso das nitrosaminas, pode ter um impacto significativo sobre aspectos fundamentais dos medicamentos como segurança, qualidade e eficácia. Essas impurezas são motivo de preocupação e estão sujeitas a regulamentações rigorosas estabelecidas por autoridades regulatórias, que ao longo

do desenvolvimento da indústria farmacêutica, surgiram com o objetivo de garantir a saúde e bem-estar do paciente (ICH, 2022a).

Entretanto, ao longo dos anos, graças a um interesse pelo mercado global, as indústrias se depararam com uma série de divergências nos requisitos técnicos de um país para o outro. Adequar os medicamentos para os diferentes mercados implicaria em um processo oneroso. Portanto, pensando nos altos custos para desenvolvimento de produtos farmacêuticos e a urgente demanda por novos tratamentos seguros e eficazes para pacientes necessitados, surge a necessidade de harmonizar a regulamentação promovendo padrões rigorosos de qualidade, segurança e eficácia a nível global (ICH, 2022a).

Como possível resultado dessa busca por harmonizar os requisitos técnicos, a discussão sobre a avaliação e controle de nitrosaminas tomou proporções mundiais. Neste sentido, destaca-se a presença da ANVISA como membro regulador e também como membro eleito do comitê gestor (mandato até 06/2024) do ICH, o qual reúne autoridades reguladoras e associações de indústrias farmacêuticas para discutir aspectos técnicos e científicos para o registro de medicamentos (ICH, 2023a).

Desde a sua criação em 1990, o ICH desenvolveu diversos guias relacionados a aspectos de segurança, qualidade, eficácia e assuntos multidisciplinares, incluindo o guia para avaliação e controle de impurezas mutagênicas, grupo no qual as nitrosaminas se encaixam (ICH, 2023a, 2023b; BRASIL, 2022a, 2022b).

Com base na importância da contaminação de medicamentos por nitrosaminas para a saúde pública e na necessidade de uma regulamentação adequada, o objetivo deste trabalho foi buscar um maior entendimento dos riscos da presença de nitrosaminas em medicamentos, com foco em seus aspectos químicos e toxicológicos.

2. METODOLOGIA

O presente trabalho se trata de uma pesquisa qualitativa com foco na análise documental, a fim de buscar um maior entendimento dos riscos da presença de nitrosaminas em medicamentos, com ênfase em seus aspectos químicos e toxicológicos. A escolha dessa metodologia se justifica pela natureza exploratória do estudo e pela necessidade de compreender um assunto que é relativamente recente no âmbito da indústria farmacêutica.

A coleta de dados foi realizada por meio de uma ampla pesquisa em diversas fontes de informação, incluindo autoridades regulatórias e bases de dados de artigos científicos. Inicialmente, foram consultados os sites da Anvisa, EMA, IARC, ICH, OECD, com o objetivo de identificar notícias, comunicados e relatórios que abordassem o tema das nitrosaminas em medicamentos, as bases regulatórias e informações sobre as nitrosaminas em si.

Essa pesquisa inicial permitiu uma compreensão abrangente do cenário regulatório e das implicações das nitrosaminas em medicamentos. A partir dessas fontes, foram obtidas informações essenciais sobre os testes exigidos pelas autoridades regulatórias, bem como diretrizes e regulamentos relacionados à presença de nitrosaminas.

Além disso, foram realizadas buscas nas bases de dados científicos, como o ScienceDirect (Elsevier) e American Chemical Society, utilizando as palavras-chave: nitrosamina AND pharmaceutical, nitrosamine AND drug, nitrosamine AND mutagenicity, nitrosamine AND purge. Essa abordagem permitiu identificar artigos científicos relevantes que exploram a reatividade das nitrosaminas, casos de contaminação, mecanismos de ação relacionados à carcinogenicidade e detalhes sobre os testes mencionados pelas autoridades regulatórias.

Os critérios de inclusão para seleção dos artigos foram definidos com base em sua relevância para os objetivos da pesquisa. Foram priorizados artigos que evidenciam no título a presença das nitrosaminas em medicamentos e a análise de impurezas mutagênicas em produtos farmacêuticos. Além disso, a idade dos documentos também foi considerada, com um enfoque nos últimos 10 anos, com atenção especial aos últimos 5 anos, dado que o primeiro caso de contaminação de nitrosaminas em medicamentos ocorreu em 2018. No entanto, houve flexibilidade em

relação ao período, considerando também documentos anteriores relevantes para o contexto do estudo.

Os documentos selecionados foram cuidadosamente analisados e interpretados para identificar informações pertinentes ao risco das nitrosaminas em medicamentos. As referências bibliográficas dos documentos foram consultadas para identificar outras fontes relevante e garantir uma abordagem abrangente e atualizada.

Com base na análise documental realizada, os resultados foram sintetizados em um relatório final, apresentando as principais descobertas e informações relevantes sobre os riscos associados à presença de nitrosaminas em medicamentos.

3. IMPUREZAS NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

As impurezas podem ser definidas como componentes presentes no insumo farmacêutico ou produto acabado que difere do IFA e seus excipientes. Elas podem ser formadas desde a síntese das matérias-primas até o armazenamento do produto acabado (BRASIL, 2015; ICH, 2023b).

A preocupação com as impurezas se dá pelo compromisso com a segurança, qualidade e eficácia dos medicamentos. O IFA e os excipientes são conhecidos e têm sua segurança bem documentada. Já as impurezas são formadas de maneira involuntária, e por isso precisam ser qualificadas, processo no qual se obtém e avalia dados referentes à segurança biológica (BRASIL, 2015; ICH, 2023b; ICH, 2006).

A regulamentação de impurezas apresenta uma complexidade significativa, com cada autoridade regulatória possuindo sua própria legislação específica sobre o assunto. Frequentemente, essas legislações podem diferir entre si, resultando em conflitos e disparidades, com algumas regulamentações sendo mais rigorosas do que outras. Nesse contexto, a proposta de harmonização do ICH tem um papel fundamental, pois visa estabelecer um padrão comum de avaliação das impurezas, promovendo a coerência e a compatibilidade dos métodos utilizados.

Atualmente, as autoridades regulatórias que integram o ICH recomendam o uso dos guias do ICH em suas regulamentações para a avaliação de impurezas, sendo esses guias considerados referência para tomada de decisões. O ICH possui os seguintes guias para impurezas: Q3A, Q3B, Q3C, Q3D e Q3E.

Quadro 1 - Relação de guias para impurezas desenvolvidos pelo ICH.

| Identificação | Nome do Guia |
|----------------------|--|
| ICH Q3A(R2) | <i>Impurities in New Drug Substances - for organic impurities</i> |
| ICH Q3B(R2) | <i>Impurities in New Drug Products - for organic impurities in drug products</i> |
| ICH Q3C(R7) | <i>Residual Solvents - for residual solvents in drug substances and drug products</i> |
| ICH Q3D | <i>Elemental Impurities - for elemental impurities in drug products</i> |
| ICH Q3E | <i>Impurity: Assessment and Control of Extractables and Leachables for Pharmaceuticals and Biologics (em desenvolvimento).</i> |
| ICH M7(R2) | <i>Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk - for mutagenic impurities in drug substances and drug products</i> |

Fonte: ICH

O guia Q3A do ICH (ICH, 2006a) classifica as impurezas em três categorias com base em suas propriedades químicas: impurezas orgânicas, impurezas inorgânicas e solventes residuais.

As impurezas orgânicas estão relacionadas ao processo de fabricação e/ou armazenamento da substância medicamentosa. Elas podem ser identificadas ou não identificadas, voláteis ou não voláteis. Estão contidos neste grupo: matérias-primas, subprodutos, intermediários, produtos de degradação, reagentes, ligantes e catalisadores (ICH, 2006a).

As impurezas inorgânicas podem resultar do processo de fabricação. Elas são normalmente conhecidas e identificadas, e incluem: reagentes, ligantes, catalisadores, metais pesados ou outros metais residuais, sais inorgânicos, além de outros materiais, como auxiliares de filtração, carvão vegetal (ICH, 2006a).

Os solventes são líquidos orgânicos ou inorgânicos utilizados como veículo no preparo de soluções ou suspensões e na síntese de novas substâncias medicamentosas (ICH, 2006a). O controle é feito segundo o ICH Q3C, que por sua

vez, define solventes residuais como produtos químicos orgânicos voláteis que são usados ou produzidos durante a fabricação de produtos farmacêuticos e que não são completamente removidos após o processo. Pode-se inferir que apenas os solventes orgânicos voláteis são controlados via o guia Q3C (ICH, 2021).

Além disso, as impurezas podem ser categorizadas com base em sua origem, natureza química e perfil de segurança, tais como: produtos de degradação, impurezas elementares e impurezas mutagênicas. Produtos de degradação são impurezas resultantes de alterações químicas que surgem durante a fabricação ou armazenamento do medicamento (ICH, 2006a, 2006b, 2022c, 2023b).

As impurezas elementares são aquelas provenientes de catalisadores residuais que foram adicionados intencionalmente na síntese ou presentes como impurezas (por exemplo, por meio de interações com os equipamentos de processamento, embalagens ou presentes em componentes do medicamento) (ICH, 2022c).

As impurezas mutagênicas são aquelas que têm o potencial de causar dano ao DNA quando presentes em níveis baixos, levando a mutações e potencialmente causando câncer. As nitrosaminas se encaixam nesse grupo (ICH, 2023b).

3.1 Impurezas mutagênicas na indústria farmacêutica

As nitrosaminas são impurezas amplamente reconhecidas por seu potencial genotóxico e mutagênico, exigindo um controle específico e rigoroso. A genotoxicidade abrange qualquer alteração prejudicial ao material genético, como mutações gênicas e alterações cromossômicas. A mutagenicidade, que é um mecanismo de genotoxicidade, refere-se à capacidade de uma substância causar mutações genéticas permanentes em um organismo, que podem ser transmitidas a seus descendentes ou levar ao desenvolvimento de um tumor. Essas mutações são causadas pela reação direta entre a substância mutagênica e o DNA (THRESHER et al., 2020; EFSA, 2023; EPSJV, 2023; ICH, 2023b).

No contexto de registro de medicamentos, é essencial avaliar o potencial genotóxico de uma substância, o que envolve uma bateria de testes, incluindo a avaliação da mutagenicidade através do teste de mutação genética reversa bacteriana a qual possui uma boa correlação geral com a carcinogenicidade. Essas avaliações são fundamentais para garantir a segurança e eficácia dos medicamentos (ICH, 2011).

O teste de mutação reversa bacteriana utiliza cepas de *Salmonella typhimurium* (teste de Ames) e *Escherichia coli* tratadas geneticamente para necessitar de uma

fonte externa de aminoácido para sua proliferação/crescimento. Dessa forma, utiliza-se um meio de crescimento isento de aminoácidos e quando se adiciona a substância mutagênica ao cultivo, ela é capaz de promover mutações pontuais que permitem restaurar a capacidade funcional bacteriana (reverte) de sintetizar o aminoácido essencial e com isto garantir seu crescimento na ausência desse aminoácido. Estas mutações pontuais envolvem substituição, adição ou deleção de um ou alguns pares de bases de DNA (OECD, 2020; TREJO-MARTIN et al., 2022).

As cepas de *S. typhimurium* são utilizadas para detectar mudanças nos sítios de Guanina-Citosina (G-C), denominadas TA1535, TA1537 (ou TA97, ou TA97a), TA98 e TA100. Para detectar pontos de mutação nos sítios de Adenina-Timina (A-T) deve-se utilizar TA 102 ou *E.coli* WP2 uvrA (BRASIL, 2013).

Dentre os testes de mutação reversa bacteriana, o teste de Ames é tido como padrão para avaliação da mutagenicidade *in vitro*, ele é rápido, barato e relativamente fácil de realizar. O resultado fornece informações sobre o potencial mutagênico da substância e a necessidade de controle (ICH, 2011; ICH M7, 2023).

Ao avaliar o potencial mutagênico de uma substância, é essencial considerar a ingestão aceitável dessa substância, garantindo que represente um risco insignificante de carcinogenicidade levando em conta o tempo que essa substância será utilizada. Essas condições têm sido amplamente estudadas e com base em pesquisas de vários compostos carcinogênicos em alimentos, foi estabelecido um Limiar de Preocupação Toxicológica (*Threshold of Toxicological Concern, TTC*) (ICH M7, 2023; KROES et al, 2005).

O TTC representa o limite máximo de exposição permitido para uma impureza mutagênica ao longo da vida, para alimentos este limiar é de 0,15µg/dia, representando um risco de $1:1 \times 10^{-6}$. Para medicamentos o limiar foi estabelecido em 1,5µg/dia considerando a dose máxima diária ao longo de toda a vida (>10 anos), correspondendo a um risco teórico de 1:100.000 considerando os benefícios terapêuticos dos medicamentos (PONTING; FOSTER, 2023).

Caso a exposição a impureza mutagênica seja inferior a 10 anos, uma abordagem de exposição menor que a vida toda (*Less-Than-Lifetime, LTL*) é adotada e os limites genéricos de exposição ao longo da vida são aumentados, conforme quadro 2 (SNODIN, 2020).

Quadro 2 - Ingestão Aceitável x Duração do tratamento para impurezas mutagênicas individuais

| Duração do tratamento | ≤ 1 mês | > 1 - 12 meses | > 1 - 10 anos | > 10 anos |
|------------------------------|----------------|--------------------------|-------------------------|---------------------|
| Ingestão diária | 120 µg/dia | 20µg/dia | 10µg/dia | 1,5µg/dia |

Fonte: (SNODIN, 2020).

Entretanto, para os compostos descritos como parte do “grupo de preocupação” do ICH M7, o TTC não é aplicável. Este grupo de preocupação, inclui compostos semelhantes a aflatoxinas, N-nitrosos e alquil-azóxicos. Essa classificação foi obtida após uma análise considerando substâncias químicas com grupos estruturais considerados mutagênicos altamente potentes, ou seja, compostos que induzem a formação de tumores por meio de danos iniciais ao DNA, em vez de provocar inflamação crônica ou desregulação de vias de sinalização (ICH M7, 2023; ANVISA, 2022; PONTING, FOSTER, 2023;).

Esta análise identificou grupos estruturais com potência tão alta que a ingestão mesmo abaixo do TTC estaria teoricamente associada a um potencial de risco carcinogênico significativo, uma vez que pequenas quantidades desses compostos oferecem um alto risco carcinogênico (ICH M7, 2023; ANVISA, 2022; PONTING, FOSTER, 2023;).

A avaliação de impurezas mutagênicas começa pela determinação de todas as impurezas reais e potenciais que possam surgir desde a síntese até o armazenamento de um IFA ou fabricação e armazenamento de um medicamento (ICH M7, 2023).

As impurezas reais são aquelas observadas no IFA ou medicamento acima dos limiares de relato dos guias Q3A e Q3B (produtos de degradação reais) e as impurezas potenciais são aquelas que teoricamente podem surgir durante a fabricação ou armazenamento, elas podem ou não estar presentes no medicamento (ICH M7, 2023).

A presença de uma estrutura alerta de mutagenicidade/genotoxicidade não é suficiente para desencadear medidas de acompanhamento, a menos que seja uma estrutura do grupo de preocupação. Uma estrutura alerta diz respeito a um grupamento químico ou (sub)estrutura molecular associada à mutagenicidade, estas

podem ser uma estrutura eletrofílica ou um elemento estrutural que pode ser ativado pelo metabolismo para formar uma parte eletrofílica, de modo que o composto tenha o potencial de reagir com o DNA (ICH M7, 2023; SNODIN, 2020).

Portanto, após a determinação das impurezas reais e potenciais deve-se realizar pesquisas em bancos de dados e literatura para obter dados de carcinogenicidade e mutagenicidade bacteriana, para então classificar estas impurezas quanto ao seu potencial mutagênico e carcinogênico.

O ICH M7 traz a seguinte classificação e propostas de controles para impurezas mutagênicas:

Quadro 3 - Classificação de impurezas mutagênicas e estratégias de controle.

| Classe | Definição | Estratégia de controle |
|---------------|--|---|
| 1 | Carcinógenos mutagênicos conhecidos. Positiva para os testes de mutagenicidade e carcinogenicidade. | Controle igual ou inferior ao limite aceitável do composto (TD50) |
| 2 | Mutagênicos conhecidos com potencial carcinogênico desconhecido. Positivo para mutagenicidade em bactéria, sem dado de carcinogenicidade em roedores. | Controle igual ou inferior aos limites aceitáveis (TTC apropriado) |
| 3 | Estrutura de alerta, não relacionada à estrutura da substância medicamentosa; sem dados de mutagenicidade. | Controle igual ou inferior aos limites aceitáveis (TTC apropriado) ou teste de mutagenicidade bacteriana; Se não-mutagênico = Classe 5 Se mutagênico = Classe 2 |
| 4 | Estrutura de alerta, o mesmo alerta em substância medicamentosa ou compostos relacionados à substância medicamentosa (ex.: intermediários de processo) que foram testados e não são mutagênicos. | Tratar como impureza não-mutagênica, no escopo do ICH Q3A. |
| 5 | Nenhum alerta estrutural ou estrutura de alerta com dados suficientes para demonstrar falta de mutagenicidade ou carcinogenicidade | Tratar como impureza não-mutagênica, no escopo do ICH Q3A. |

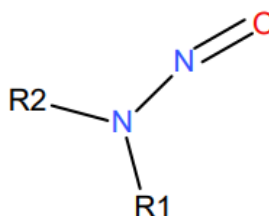
Fonte: ICH M7 (2023).

4. NITROSAMINAS

De acordo com o guia nº50/2021 da Anvisa (2022), as nitrosaminas, também denominadas *N*-nitrosaminas, constituem uma classe de compostos caracterizados

pela ligação de um grupo nitroso (-N=O) a um grupo funcional amina (-NR₂) (Figura 1).

Figura 1: Estrutura geral de nitrosaminas



Fonte: Elaborada pela autora utilizando o software BIOVIA Draw (2023).

Dentro dessa classe de compostos existem agentes mutagênicos que são potencialmente carcinogênicos, como a NDMA, cuja carcinogenicidade em ratos foi comprovada por um estudo conduzido por volta de 1956 por Magee e Barnes. Após esse achado, os estudos sobre a toxicidade de nitrosaminas foram intensificados, e centenas de outros compostos foram estudados e considerados cancerígenos em várias espécies animais (LÓPEZ-RODRÍGUEZ et al., 2020).

4.1. Carcinogenicidade de nitrosaminas

Considerando que em pH fisiológico as nitrosaminas são estáveis, para que consigam apresentar atividade genotóxica, requerem ativação metabólica. Essa ativação ocorre por meio alfa-hidroxilação por enzimas dependentes do citocromo P450, principalmente via CYP2E1 (exceto para *N*-nitrosodietilamina (NDEA) que também pode ser bioativada pela CYP2A6). Nesse processo, ocorre a perda espontânea de um aldeído ou, em alguns casos, a formação de uma nitrosamida por meio de alfa-hidroxilações sucessivas. As nitrosamidas, por sua vez, são instáveis no pH fisiológico e tendem a se decompor de maneira não enzimática. Esses mecanismos resultam em carbocátions altamente reativos ou compostos diazônios, os quais possuem a capacidade de promover a alquilação de macromoléculas celulares tais como DNA, RNA e cromossomos (TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021).

A NDMA produziu tumores em uma variedade de espécies não clínicas, desde peixes, anfíbios, roedores e outros mamíferos após exposição por meio de várias rotas diferentes. Tumores benignos e malignos após exposição ao NDMA foram identificados no trato respiratório, rim, trato digestivo, fígado e ducto biliar, sistema

hematopoiético e trato reprodutor feminino. Da mesma forma, os tumores identificados após a exposição a NDEA em várias espécies não clínicas, incluindo cães e porcos, acometeram o fígado, rim, trato respiratório e trato digestivo (LIM et al., 2018).

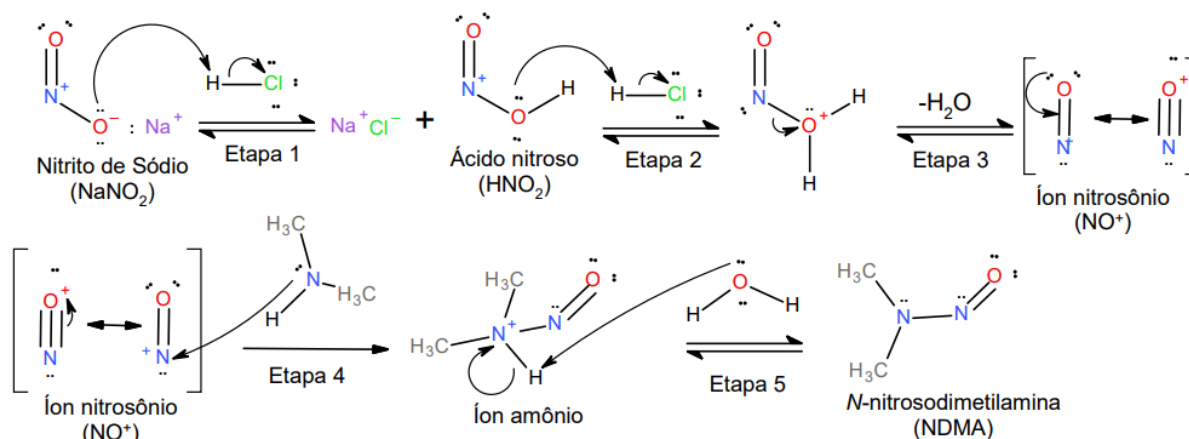
Segundo o *National Toxicology Program* (2015), embora nenhum estudo epidemiológico avaliando a relação da exposição ao NDEA e o câncer humano tenha sido realizado, vários estudos de caso-controle de base populacional e estudos ecológicos foram conduzidos a fim de avaliar a relação entre as fontes dietéticas de NDMA e o câncer. Associações relacionadas à dose de câncer colorretal, estomacal, esofágico e orofaríngeo com exposição estimada de NDMA foram identificadas em vários estudos de caso-controle.

Além disso, um risco aumentado associado ao câncer de pulmão foi identificado com aumentos relacionados à dose na exposição alimentar estimada ao NDMA. Portanto, autoridades regulatórias suspeitam que NDMA, NDEA e outras nitrosaminas estruturalmente relacionadas são capazes de agirem como carcinógenos em humanos com base na evidência de carcinogenicidade em uma variedade de espécies não clínicas e em um pequeno número de estudos de caso-controle com humanos (TANIGUSHI et al., 2020).

4.2. Formação de nitrosaminas

As nitrosaminas são formadas através de uma reação que promove uma ligação N-N conhecida como *N*-nitrosação, na qual um grupo funcional nitroso (-NO) é introduzido em uma molécula de contendo NH (como por exemplo, aminas) por um agente nitrosante sob determinadas condições de reação. O tipo de amina (primária, secundária ou terciária) determina o produto resultante da *N*-nitrosação (LÓPEZ-RODRÍGUEZ et al., 2020; KLEIN, 2016; ANVISA, 2022).

A formação de nitrosaminas ocorre principalmente pela nitrosação de aminas secundárias, terciárias e compostos de amônio quaternário utilizando ácido nitroso. No entanto, o ácido nitroso é um ácido fraco e instável, o que requer sua preparação *in situ*, ou seja, na presença de uma amina para que a *N*-nitrosação possa ocorrer (KLEIN, 2016). Ele pode ser obtido a partir do tratamento de nitrito de sódio (NaNO₂) com um ácido forte, como por exemplo o ácido clorídrico (HCl), e dessa forma, o ácido nitroso será posteriormente protonado, para em seguida perder uma molécula de água e gerar o íon nitrosônio (NO⁺) que é o responsável pela *N*-nitrosação da amina (esquema 1) (KLEIN, 2016; ANVISA, 2022).

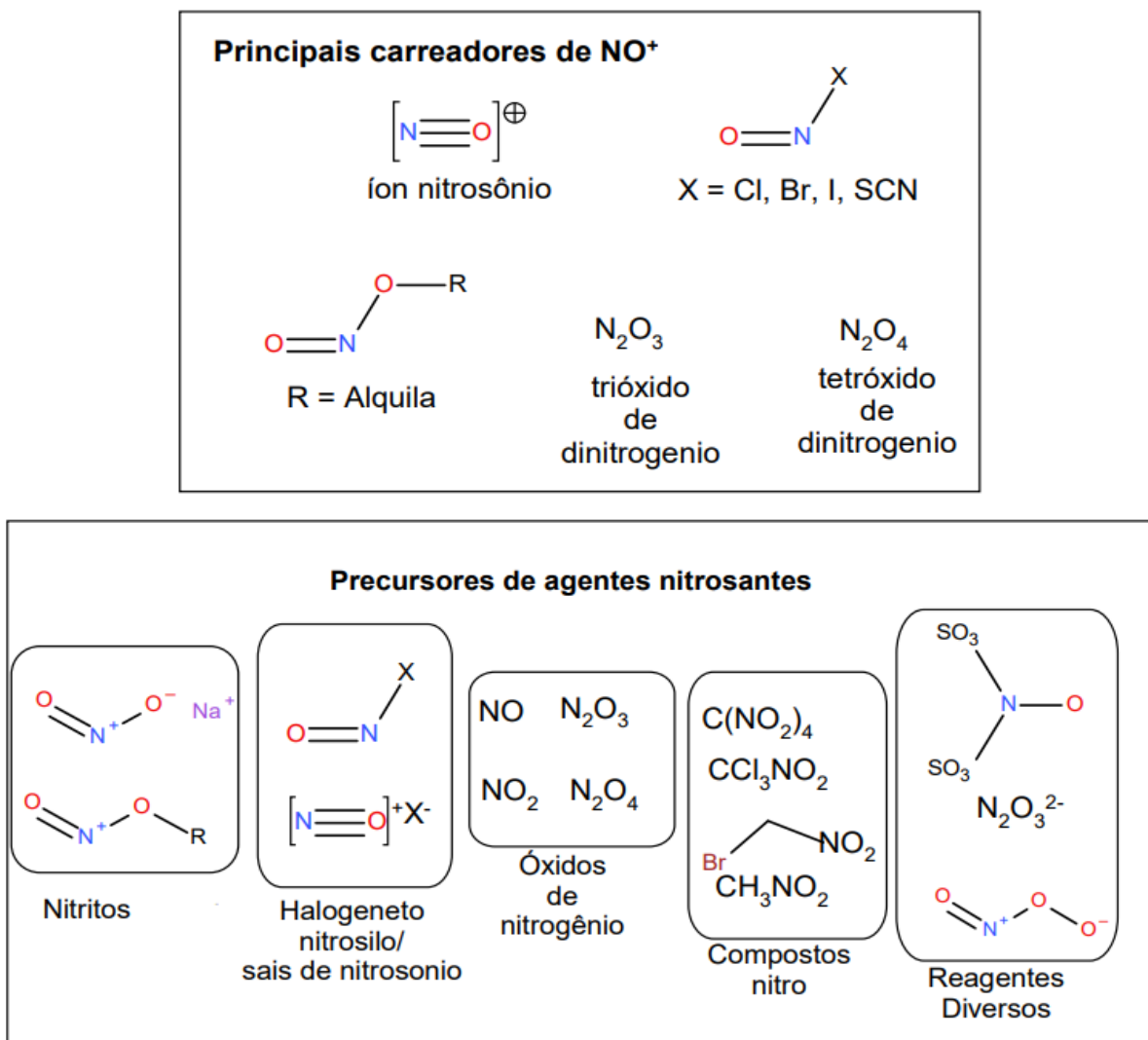
Esquema 1 - Formação de ácido nitroso e *N*-nitrosação de dimetilamina.

Fonte: Adaptado de Klein, 2016.

O íon nitrosônio (NO^+) é um eletrófilo forte que está sujeito ao ataque nucleofílico das aminas. Ele é um dos principais agentes nitrosantes junto com haletos de nitrosila e derivados, nitritos de alquila, trióxido de dinitrogênio e tetróxido de dinitrogênio (figura 2). Os agentes nitrosantes funcionam como carreadores/transportadores de íon nitrosônio (NO^+) (KLEIN, 2016; LÓPEZ-RODRÍGUEZ et al., 2020).

A velocidade com que a *N*-nitrosação de aminas ocorre é influenciada por vários fatores, incluindo a estrutura da molécula, propriedades físico-químicas como o pK_a e a presença de impedimento estérico no grupo ligado ao átomo de nitrogênio (LÓPEZ-RODRÍGUEZ et al., 2020).

Figura 2 - Carreadores de NO⁺ e Precusores de agentes nitrosantes.



Fonte: LÓPEZ-RODRÍGUEZ et al., 2020.

Em termos gerais, as amins terciárias são significativamente menos reativas que as amins secundárias porque requerem uma etapa adicional de desalquilação. E as amins primárias formam produtos instáveis que se decompõem rapidamente (KLEIN, 2016; LÓPEZ-RODRÍGUEZ et al., 2020).

A formação de nitrosaminas depende da presença de fontes de amins e precusores de agente nitrosante. As fontes de amins incluem amins secundárias e terciárias, outros derivados de amins, tais como cianamida, guanidinas, amidinas, hidroxilaminas, hidrazinas, hidrazonas e hidrazidas. A *N*-nitrosação desses compostos com ácido nítrico (HNO₂) ou nitrito (NO₂⁻) são um caminho comum para a formação desses compostos (KLEIN, 2016; LÓPEZ-RODRÍGUEZ et al., 2020).

Os precursores de agentes nitrosantes podem ser classificados em: sais e ésteres de nitrito, compostos do tipo halogeneto nitrosilo e sais de nitrosônios, óxidos de nitrogênio, compostos orgânicos de nitro e reagentes diversos (figura 2) (LÓPEZ-RODRÍGUEZ et al., 2020).

Devido as inúmeras fontes disponíveis para a formação de nitrosaminas, é esperado que vários IFAs e medicamentos possam estar contaminados. Além disso, o processo de produção e distribuição de um medicamento, abrange desde a síntese do IFA até o armazenamento do produto acabado (PA). Esse processo envolve múltiplas etapas, o que pode levar à formação de nitrosaminas em diferentes pontos e razões, ao longo do caminho (EMA, 2020; TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021).

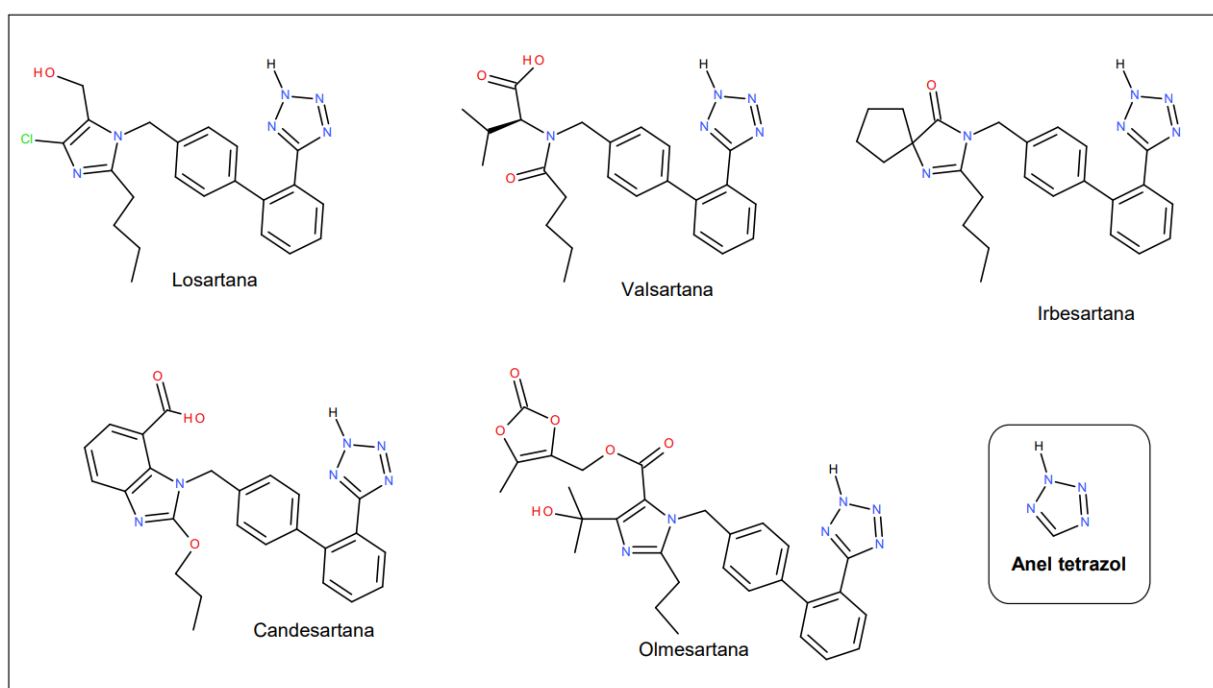
4.2.1. Formação de nitrosaminas em bloqueadores dos receptores da angiotensina II (BRAs) contendo anel tetrazol

A valsartana é um anti-hipertensivo da classe dos bloqueadores dos receptores da angiotensina II. É um medicamento indicado para o tratamento de pacientes com hipertensão arterial com o objetivo de reduzir complicações tais como infarto agudo do miocárdio e acidente vascular cerebral (EMA, 2018).

Esta classe de medicamentos é caracterizada por um núcleo bifenil, que consiste em dois anéis fenílicos conectados, com um centro ácido, geralmente na forma de um anel tetrazol ou um substituinte carboxila (figura 3). Esta estrutura é essencial para a atividade farmacológica desses compostos (TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021).

A provável origem da contaminação por nitrosaminas pode ser resultado de mudanças na síntese do anel tetrazol (figura 3). Durante uma etapa da síntese foi utilizado nitrito de sódio (precursor de agente nitrosante) e dimetilformamida (DMF) como solvente. Devido ao seu processo de fabricação e condições de armazenamento, o DMF pode conter traços de dimetilamina, uma amina secundária (LÓPEZ-RODRÍGUEZ et al., 2020; ANVISA, 2022; EMA, 2020).

Figura 3 - Sartanas contendo anel tetrazol.



Fonte: TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021.

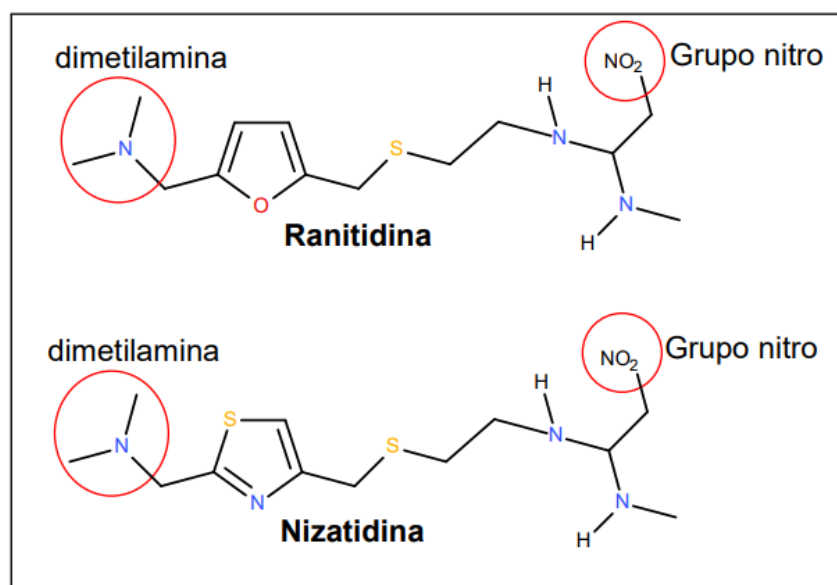
4.2.2. Formação de nitrosaminas em antagonistas dos receptores histamina-2 (H2)

Os antagonistas dos receptores H2 são utilizados como agentes antissecretores de HCl em distúrbios associados à uma hiperacidez gástrica, como úlcera péptica, gastrite, refluxo gastroesofágico (HILAL-DANDAN; BRUNTON, 2015).

Os relatos de contaminação desta classe estão relacionados a ranitidina e nizatidina. Além disso, ao contrário dos BRAs, a contaminação de nitrosaminas nesses medicamentos não foi estabelecida de maneira clara, mesmo após uma análise cuidadosa de toda a sua rota sintética. A ranitidina e a nizatidina possuem em sua estrutura um grupo funcional nitro e uma cadeia lateral dimetilamina (figura 4) que são precursores de nitrosaminas (TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021).

A ranitidina é associada à formação de NDMA durante a cloraminação de água residual contaminada pelo IFA. O mecanismo de formação da NDMA envolve a substituição nucleofílica de monocloroamina (NH₂Cl) pela fração dimetilamina da ranitidina para produzir um intermediário de hidrazina, que posteriormente é oxidado à NMDA. Além disso, a ingestão de ranitidina parece estar relacionada a níveis elevados de NDMA na urina (TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021).

Figura 4 - Precursores de nitrosaminas na estrutura de Ranitidina e Nizatidina



Fonte: TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021.

A contaminação destes IFAs por nitrosaminas pode ter a ver com a contaminação da água por NDMA, instabilidade do IFA e a degradação de impurezas do medicamento (TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021).

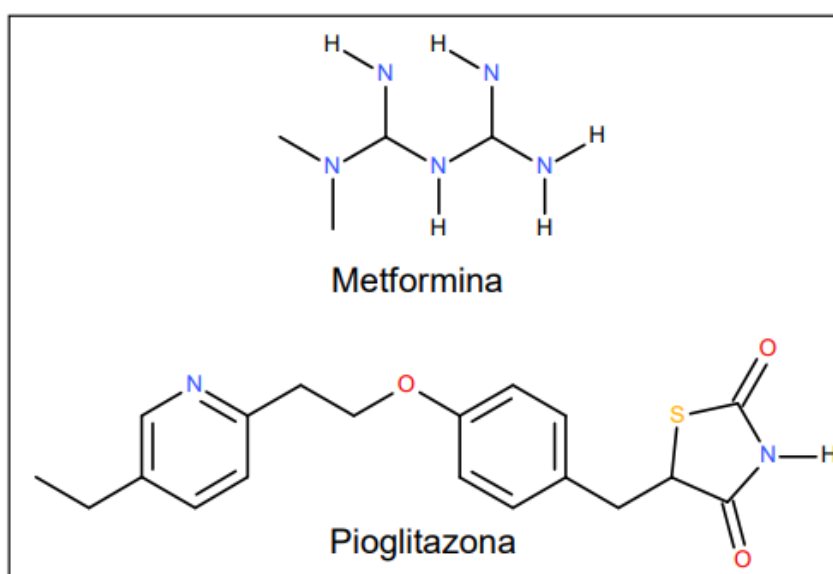
4.2.3. Formação de nitrosaminas em antidiabéticos

Os antidiabéticos são fármacos utilizados com o objetivo de controlar os níveis de glicemia. Dentre os medicamentos utilizados para o tratamento da diabetes, os casos de contaminação por nitrosaminas ocorreram com metformina de liberação prolongada e pioglitazona, que possuem a estrutura representada na figura 5 (TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021).

A metformina é relativamente estável e requer fatores externos, como agentes nitrosantes, umidade e calor para formar NDMA. Durante o processo de fabricação da

metformina, há nitritos e nitratos disponíveis em alguns excipientes farmacêuticos. A umidade adicional do processo de granulação úmida e o calor excessivo durante o processo de secagem iniciam as reações de nitrosação no processo de fabricação dos comprimidos de metformina. O risco aqui poderia ser reduzido ao se evitar excipientes que contenham nitrito e nitrato e o processo de granulação úmida. Na presença de álcalis ou calor, bem como sob condições oxidativas de alta pressão, a metformina pode se decompor via oxidação para dar origem a NDMA (TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021).

Figura 5: Estrutura metformina e pioglitazona.



Fonte: TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021.

A contaminação por NDMA em pioglitazona é proveniente do uso de nitrito de sódio e ácido bromídrico em uma etapa inicial da síntese, antes do uso de DMF e cloridrato em uma etapa posterior. O nitrito de sódio ou outros agentes nitrosantes podem ser transportados em várias operações unitárias durante a síntese do IFA (TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021).

4.2.4. Formação de nitrosaminas em antimicrobianos

Os antimicrobianos contaminados por nitrosaminas são a rifampicina e rifapentina, fármacos utilizados no tratamento da tuberculose. As nitrosaminas encontradas nestes medicamentos estão estruturalmente relacionados aos IFAs, a 1-metil-4-nitrosopiperazina (MNP) e 1-ciclopentil-4-nitrosopiperazina (CPNP), o que implica que elas são formadas durante o processo de síntese, sendo a CPNP um subproduto da produção de rifapentina e apesar de não estar totalmente esclarecido

acredita-se que a MNP origina-se da mesma forma a partir de rifapentina (TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021).

A contaminação por MNP e CPNP na rifampicina e rifapentina pode ocorrer quando agentes nitrosantes introduzidos durante o processo de fabricação reagem com 1-metilpiperazina e 1-ciclopentilpiperazina, respectivamente (TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021).

5. AVALIAÇÃO E CONTROLE DE NITROSAMINAS

A gestão de riscos de qualidade é um elemento fundamental para garantir a segurança dos medicamentos e proteger os pacientes. Durante a fabricação e uso dos medicamentos, existe um certo nível de risco envolvido. É essencial compreender que a qualidade do produto é assegurada por meio de decisões baseadas no risco ao longo do ciclo de vida do medicamento, garantindo que os atributos essenciais para a qualidade sejam mantidos e que o produto permaneça seguro e eficaz (ICH, 2023c).

A avaliação do risco para a qualidade deve ser embasada em conhecimento científico e estar voltada para a proteção do paciente, incluindo situações em que a disponibilidade do medicamento é afetada e isso pode gerar danos ao paciente. Quanto maior o risco, maior deve ser o esforço, formalidade e documentação aplicados no processo de gerenciamento de riscos à qualidade (ICH, 2023c).

No caso específico das nitrosaminas, a avaliação do risco é de extrema importância, uma vez que são impurezas mutagênicas altamente potentes e sua presença pode ter diversas origens. Por meio da colaboração entre autoridades regulatórias e indústrias farmacêuticas, o conhecimento sobre nitrosaminas em medicamentos tem sido consolidado, permitindo a adoção de medidas mais adequadas.

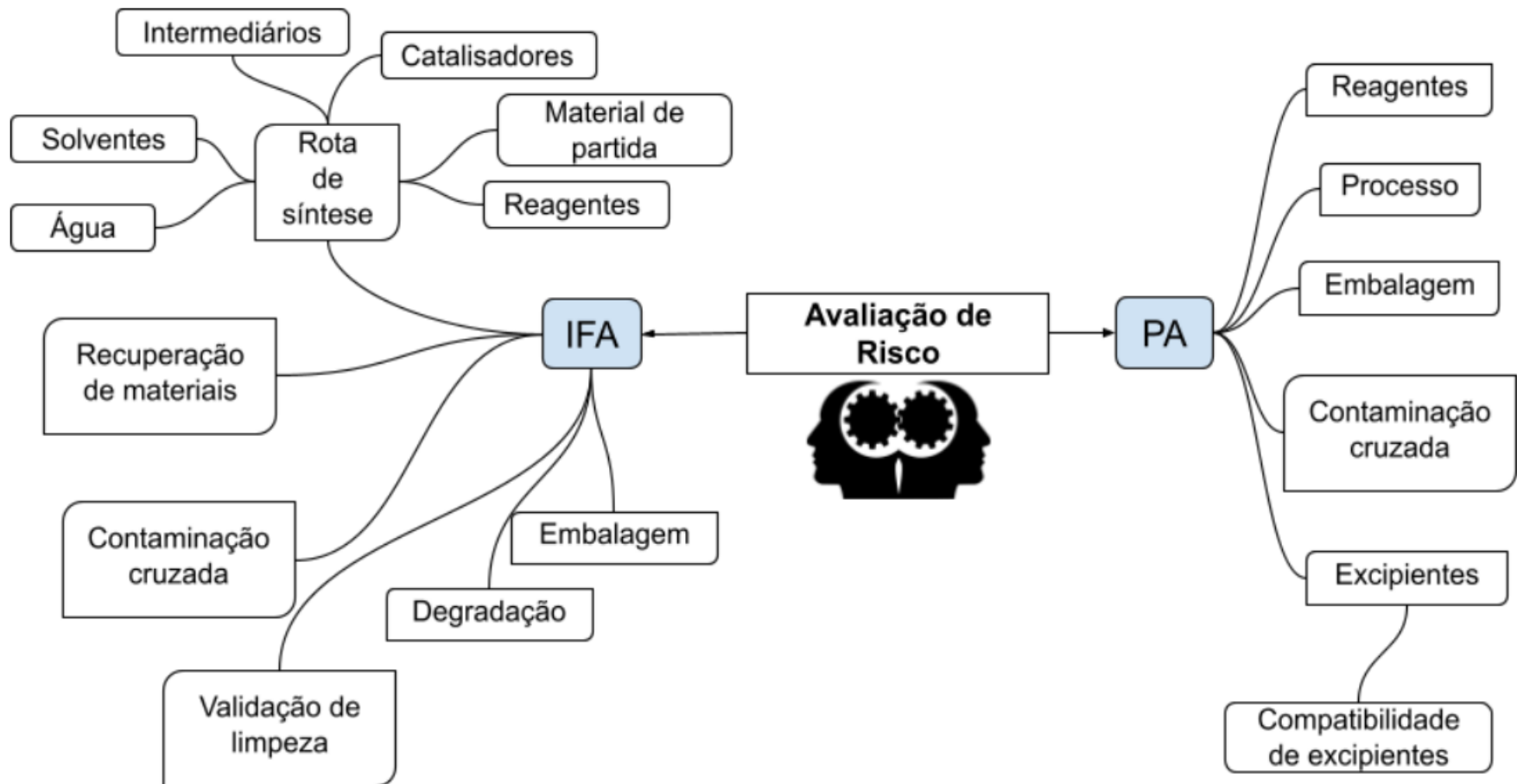
Inicialmente, devido a contaminação do produto acabado ocorrer de diferentes maneiras, em alguns casos não sendo específicos do produto, a orientação era a de que todos os IFAs sintetizados quimicamente deveriam ter o seu processo de fabricação revisado. Os produtos considerados de risco deveriam passar por testes, e os fabricantes deveriam comunicar a detecção de qualquer nitrosamina, a fim de que as medidas regulatórias apropriadas pudessem ser tomadas (LÓPEZ-RODRÍGUEZ et al., 2020)

O guia nº50/2021 da Anvisa (BRASIL, 2022c) diz que a análise de risco pode ser dividida em três etapas: Avaliação de Risco (1), Testes confirmatórios (2) e Alterações pós-registro (3).

5.1. Etapa 1: Avaliação de Risco

A etapa de avaliação de risco consiste na identificação e avaliação do risco. O guia recomenda que ela seja iniciada pela análise da rota de síntese do IFA. Essa análise pode ser realizada pelo fabricante, distribuidor ou fracionador do IFA, detentor do registro do IFA (*holder*) ou ainda pela fabricante do medicamento, caso ela detenha a rota de síntese completa do ativo. Após a análise da rota de síntese do IFA, a avaliação prossegue com a análise do processo produtivo do produto acabado (PA). A figura 6 ilustra alguns elementos que devem ser levados em consideração nestas análises (BRASIL, 2022c).

Figura 6 - Avaliação de risco.



Fonte: Adaptado do guia nº 50/2021 (BRASIL, 2022c).

Aminas e nitritos podem ser transportados como impurezas de etapas anteriores, por contaminação de reagentes e solventes, principalmente aqueles que foram reciclados ou pelo uso de equipamentos contaminados. (LÓPEZ-RODRÍGUEZ et al., 2020)

No entanto, realizar uma análise abrangente de nitrosaminas para o todo o portfólio de produtos e novos lançamentos de uma empresa pode ser uma tarefa complexa, dependendo do tempo disponível. O tamanho do portfólio varia de uma empresa para outra, sendo alguns mais extensos do que outros. Diante disso, as empresas podem adotar critérios diversos para priorizar suas análises, tais como ingestão diária recomendada, duração do tratamento (quadro 4), indicação terapêutica, números de pacientes tratados ou outros que sejam pertinentes de acordo com o portfólio ou situação específica do produto (ex. não esteja sendo comercializado naquele momento) (BRASIL, 2022C)

Quadro 4: Priorização da análise por duração do tratamento x dose máxima diária.

| Dose Máxima Diária | Duração do tratamento | | |
|--------------------|-----------------------|--------------|-------------|
| | > 1 ano | 1 a 12 meses | <= 1 mês |
| > 1000mg | Muito alto | Alto | Médio |
| 100mg a 1000mg | Alto | Médio | Baixo |
| < 100mg | Médio | Baixo | Muito Baixo |

Fonte: Adaptado do guia nº 50/2021 (BRASIL, 2022c).

Após a identificação do risco potencial de formação de nitrosaminas no processo de síntese do IFA, uma avaliação minuciosa desse processo pode ser realizada considerando a viabilidade de aplicar uma purga para eliminar as nitrosaminas potencialmente presentes. Neste contexto, é fundamental possuir um amplo conhecimento do processo de síntese do IFA e dos parâmetros associados, a fim de determinar que o risco de presença de nitrosaminas acima do limite máximo permitido seja negligenciável. Dessa forma, pode-se evitar a necessidade de testes analíticos e a estratégia de controle pode ser baseada apenas no controle do processo (BRASIL, 2022c).

Para que esta estratégia seja adotada, uma análise de risco formal considerando as propriedades físico-químicas das nitrosaminas em questão e os

fatores do processo de síntese do IFA que impactam no destino e na purga das nitrosaminas, incluindo reatividade química, solubilidade, volatilidade, ionizabilidade e processos especificamente desenvolvidos para remoção das nitrosaminas em questão. O resultado dessa análise deve estimar um fator de purga para essas nitrosaminas. Quando não for possível determinar a ausência, ou a presença em níveis negligenciáveis, a partir da análise de risco/fator de purga estimado, a estratégia de controle deverá incluir testes analíticos no IFA ou em intermediários isolados (BRASIL, 2022c).

5.2. Etapa 2: Testes confirmatórios

Se forem identificadas nitrosaminas na etapa de Avaliação de risco, a empresa deve prosseguir para os testes confirmatórios, para confirmar ou refutar a presença de nitrosaminas no IFA ou produto acabado. Nesta etapa, devem ser utilizados métodos analíticos adequadamente sensíveis para quantificação dessas impurezas. Se as nitrosaminas quantificadas estiverem abaixo de 10% do limite de ingestão aceitável, considera-se que não há presença de nitrosaminas. Outras abordagens podem ser justificadas, desde que o limite de 30% não seja excedido (BRASIL, 2022c)..

Em seguida, caso sejam identificadas impurezas acima do limite aceitável como resultado da Etapa 2, os responsáveis legais dos produtos devem imediatamente suspender a distribuição e comercialização dos medicamentos ou IFAs envolvidos. Adicionalmente, devem avaliar o risco da ingestão pelos pacientes e tomar as ações apropriadas para evitar ou minimizar a exposição dos indivíduos às nitrosaminas, incluindo a avaliação da necessidade de recolhimento. Os recolhimentos deverão ser tratados conforme disposto na RDC nº 625/2022 e suas atualizações. Casos em que o recolhimento possa gerar desabastecimento ou não haja alternativa terapêutica disponível no mercado serão avaliados caso a caso pela ANVISA. Todos os casos de identificação de impurezas acima do limite aceitável devem ser apresentados à Anvisa para avaliação (BRASIL, 2022c).

5.3. Etapa 3: Alterações pós-registro

Por fim, uma vez concluída a etapa de quantificação, a empresa deve protocolar junto à Agência, caso aplicável, as respectivas petições pós-registro (Etapa 3) em conformidade com a normativa aplicável a cada caso. As inclusões de teste são de

implementação imediata ou notificação imediata e realizadas mediante código assunto específico. Destaca-se que além da inclusão de testes, outras alterações pós-registro podem ser aplicáveis a fim de mitigar o risco da presença de nitrosaminas (BRASIL, 2022c).

6. LIMITES DE ACEITAÇÃO PARA NITROSAMINAS

Por serem descritas como parte do “grupo de preocupação” do ICH M7, o limite baseado no TTC não é aplicável a elas. Como explicado anteriormente, essas impurezas são compostos mutagênicos altamente potentes e para estes a ingestão aceitável deve ser significativamente menor do que as demais impurezas mutagênicas (ICH, 2023b).

Quadro 5 - Ingestão aceitável para algumas nitrosaminas.

| Nitrosamina (sigla) | Nomenclatura | Ingestão aceitável (ng/dia) |
|--------------------------------|--|--|
| NDMA | <i>N</i> -nitrosodimetilamina | 96,0 |
| NDEA | <i>N</i> -nitrosodietilamina | 26,5 |
| EIPNA | <i>N</i> -nitrosoetilisopropilamina | 26,5 |
| DIPNA | <i>N</i> -nitrosodiisopropilamina | 26,5 |
| NMBA | Ácido <i>N</i> -nitroso- <i>N</i> -metil-4-aminobutírico | 96,0 |
| MeNP | <i>N</i> -nitrosometilpiperazina | 26,5 |
| NDBA | <i>N</i> -nitrosodibutilamina | 26,5 |
| NMPA | <i>N</i> -nitrosometilfenilamina | 34,3 |
| NMOR | <i>N</i> -nitrosomorfolina | 127,0 |
| NNV | <i>N</i> -nitrosovareniclina | 37,0 |
| NDPA | <i>N</i> -nitrosodipropilamina | 26,5 |

Fonte: Guia nº 50/2021 (BRASIL, 2022c)

7. CONCLUSÃO

A presença de nitrosaminas em medicamentos é uma questão de saúde pública, uma vez que são compostos mutagênicos altamente potentes que podem ser formados desde a síntese do IFA até a expiração do prazo de validade do produto acabado, precisando apenas de uma fonte de amina e um precursor de agente nitrosante, os quais podem ser encontrados em vários pontos do processo de fabricação de um medicamento. Uma vez que elas podem contaminar medicamentos utilizados no tratamento de desordens crônicas, tais como diabetes e hipertensão, elas necessitam de uma avaliação minuciosa levando em conta as fontes de contaminação, os benefícios terapêuticos, dose máxima diária, entre outros fatores, para que limites aceitáveis de ingestão sejam estabelecidos e estratégias de controle elaboradas visando a segurança do paciente.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Anvisa apresenta harmonização do Brasil ao ICH.** [s.l.], 03 nov. 2022a. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2018/anvisa-apresenta-harmonizacao-do-brasil-ao-ich>. Acesso em: 13 dez. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Anvisa prepara candidatura ao Comitê Gestor do ICH.** [s.l.], 03 nov. 2022b. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2019/anvisa-prepara-candidatura-ao-comite-gestor-do-ich>. Acesso em: 13 dez. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos.** Versão 2. Brasília, 31 jan. 2013. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/documents/33836/2492465/Guia+para+a+Condu%C3%A7%C3%A3o+de+Estudos+N%C3%A3o+Cl%C3%ADnicos+de+Toxicologia+e+Seguran%C3%A7a+Farmacol%C3%B3gica+Necess%C3%A1rios+ao+Desenvolvimento+de+Medicamentos+-+Vers%C3%A3o+2/a8cad67c-14c8-4722-bf0f-058a3a284f75>. Acesso em: 30 abr. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Guia sobre o Controle de Nitrosaminas em Insumos Farmacêuticos Ativos e Medicamentos.** Guia nº50/2021, Versão 2. [s.l.]. 03 mai. 2022c. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/6279847/Guia_50_Nitrosaminas_vers%C3%A3o+2_ap%C3%B3s+CP_final_02.05.2022.pdf/d3b95ee7-e135-4026-b7a1-f2983fb38830. Acesso em: 30 abr. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC nº 53, de 11 de dezembro de 2015.** Dispõe sobre os requisitos mínimos para a validação de métodos bioanalíticos empregados em estudos com fins de registro e pós-registro de medicamentos. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, n. 234, p. 53-54, 08 dez. 2015.

EMA. European Medicines Agency. **Lessons learnt from presence of N-nitrosamine impurities in sartan medicines.** 23 jun. 2020. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/lessons-learnt-presence-n-nitrosamine-impurities-sartan-medicines_en.pdf. Acesso em: 22 out. 2022

EMA. European Medicines Agency. **EMA reviewing medicines containing valsartan from Zhejiang Huahai following detection of an impurity: some being recalled across the EU.** 05 jul. 2018. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-reviewing-medicines-containing-valsartan-zhejiang-huahai-following-detection-impurity-some>. Acesso em: 22 out. 2022.

EFSA. Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos. **Mutagenicidade.** Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/pt/glossary/mutagenicity#:~:text=A%20capacidade%20de%20causar%20altera%C3%A7%C3%B5es>. Acesso em: 30 de abril de 2023.

EPSJV. Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio. **Mutagenicidade**. Disponível em: <https://www.epsjv.fiocruz.br/mutagenicidade>. Acesso em: 30 abr. 2023.

HILAL-DANDAN, Randa; BRUNTON, Laurence. **Manual de farmacologia e terapêutica de Goodman & Gilman**. [s.l.]: Grupo A, 2015, p. 1097-1098. *E-book*. ISBN 9788580555066. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788580555066/>. Acesso em: 09 jun. 2023.

ICH. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. **Guidance on genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use S2 (R1)**. [s.l.], 09 nov. 2011. Disponível em: <https://database.ich.org/sites/default/files/S2%28R1%29%20Guideline.pdf>. Acesso em: 21 abr. 2023.

ICH. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. **Guideline assessment and control of dna reactive (mutagenic) impurities in pharmaceuticals to limit potential carcinogenic risk M7(R2)**. [s.l.], 03 abr. 2023b. Disponível em: <https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_M7%28R2%29_Guideline_Step4_2023_0216_0.pdf>. Acesso em: 21 abr. 2023.

ICH. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. **Guideline for elemental impurities Q3D (R2)**. [s.l.], 26 abr. 2022c. Disponível em: https://database.ich.org/sites/default/files/Q3D-R2_Guideline_Step4_2022_0308.pdf. Acesso em: 2 nov. 2022.

ICH. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. **History**. Disponível em: <https://www.ich.org/page/history>. Acesso: 13 dez. 2022a.

ICH. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. **Impurities: guideline for residual solvents Q3C (R8)**. [s.l.], 22 abr. 2021. Disponível em: <https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_Q3C-R8_Guideline_Step4_2021_0422.pdf>. Acesso em: 2 nov. 2022.

ICH. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. **Impurities in new drug products Q3B (R2)**. [s.l.], 02 jun. 2006b. Disponível em: <https://database.ich.org/sites/default/files/Q3B%28R2%29%20Guideline.pdf> . Acesso em: 2 nov. 2022.

ICH. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. **Impurities in new drug substances Q3A (R2)**. [s.l.], 25 out. 2006a. Disponível em: <https://database.ich.org/sites/default/files/Q3A%28R2%29%20Guideline.pdf>. Acesso em: 2 nov. 2022.

ICH. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. **Management Committee**. Disponível em: <https://www.ich.org/page/management-committee>. Acesso em: 30 mar. 2023a.

ICH. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. **Members & Observers**. Disponível em: <https://www.ich.org/page/members-observers>. Acesso em: 13 dez 2022b.

ICH. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. **Quality risk management Q9 (R1)**. [s.l.], 18 jan. 2023c. Disponível em: https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_Q9%28R1%29_Guideline_Step4_2023_0126_0.pdf. Acesso em: 21 abr. 2023.

KLEIN, David. Reações das Aminas com Ácido Nitroso. **Química Orgânica - Vol. 2, 2ª edição**. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2016, p. 450-452 . *E-book*. ISBN 9788521631910. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788521631910/>. Acesso em: 09 jun. 2023.

KROES, R.; KLEINER, J.; RENWICK, A. The Threshold of Toxicological Concern Concept in Risk Assessment. **Toxicological Sciences**, v. 86, n. 2, p. 226–230, 13 abr. 2005.

LIM, Duck Soo *et al.* Risk assessment of N-nitrosodiethylamine (NDEA) and N-nitrosodiethanolamine (NDELA) in cosmetics. **Journal Of Toxicology And Environmental Health**. [S.L.], v. 81, p. 465-480. 25 abr. 2018.

LÓPEZ-RODRÍGUEZ, R. *et al.* Pathways for N-Nitroso Compound Formation: Secondary Amines and Beyond. **Organic Process Research & Development**, v. 24, n. 9, p. 1558–1585, 28 jul. 2020.

MAGEE, P N; BARNES, J M. The Production of Malignant Primary Hepatic Tumours in the Rat by Feeding Dimethylnitrosamine. **British Journal of Cancer**. [S.l.]: Springer Science and Business Media LLC. 06 jan. 1956. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2074083/pdf/brjncancer00378-0145.pdf>. Acesso em: 02 jun. 2023

National Toxicology Program. 14th Report on carcinogens (RoC). 14th Edition. 2015.

OECD. Organisation for Economic Co-operation and Development. **Test Guideline No. 471**. Bacterial Reverse Mutation Test. [s.l.]. 26 jun. 2020. Disponível em: <https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/97892264071247-en.pdf?expires=1687220283&id=id&accname=guest&checksum=AAD5A8F63420F10C069D4FBFBA252B48>. Acesso em: 21 abr. 2023.

PONTING, D. J.; FOSTER, R. Drawing a Line: Where Might the Cohort of Concern End? **Organic Process Research & Development**, 14 mar. 2023.

RATH, S.; CANAES, L. S. Contaminação de produtos de higiene e cosméticos por n-nitrosaminas. **Química Nova**, v. 32, n. 8, p. 2159–2168, 2009. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/qn/a/ScRC8h59LZM4JkMrpMqgLfq/?format=pdf&lang=pt>.
Acesso em: 13 dez. 2022.

SNODIN, D. J. A Primer for Pharmaceutical Process Development Chemists and Analysts in Relation to Impurities Perceived to Be Mutagenic or “Genotoxic”. **Organic Process Research & Development**, v. 24, n. 11, p. 2407–2427, 5 nov. 2020.

TANIGUCHI, Josephine *et al.* **Nitrosamines in Pharmaceuticals: toxicity, risk analysis, chemistry, and test methods.** 2020. American Pharmaceutical Review. Disponível em: <https://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/561484-Nitrosamines-in-Pharmaceuticals-Toxicity-Risk-Analysis-Chemistry-and-Test-Methods/>. Acesso em: 12 dez. 2021.

THRESHER, A. *et al.* Are all nitrosamines concerning? A review of mutagenicity and carcinogenicity data. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 116, p. 104749, 1 out. 2020.

TREJO-MARTIN, A. *et al.* Use of the bacterial reverse mutation assay to predict carcinogenicity of N-nitrosamines. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 135, p. 105247, 1 nov. 2022.

TUESUWAN, B.; VONGSUTILERS, V. Nitrosamine Contamination in Pharmaceuticals: Threat, Impact, and Control. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 110, n. 9, p. 3118–3128, set. 2021.