

N-NITROSAMINAS: FORMAÇÃO E ASPECTOS REGULATÓRIOS NO ÂMBITO DA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

GONÇALVES, Jacqueline Fernandes; PAULINO, Ricardo Olivieri

jacfgoncalves@gmail.com

Faculdades Oswaldo Cruz

Resumo: O controle de impurezas em produtos farmacêuticos é de fundamental importância para a avaliação da segurança e da eficácia para o uso em humanos, neste contexto destacam-se as impurezas potencialmente mutagênicas e carcinogênicas, denominada N-Nitrosaminas. Trata-se de uma classe de compostos aos quais os seres humanos são comumente expostos em pequenas doses através do tabaco e de produtos alimentares. No aspecto farmacêutico, em qualquer fase de produção do medicamento, desde a síntese do insumo farmacêutico ativo até a vida de prateleira de cada produto, essas impurezas podem evoluir se uma amina reagir com um agente nitrosante coexistindo em condições apropriadas. Deste modo, as autoridades regulatórias de medicamentos em todo o mundo, inclusive no Brasil, estabeleceram diretrizes sobre a contaminação por N-Nitrosaminas para todos os medicamentos no mercado, incluindo o recolhimento de diversos lotes com limites acima dos aceitáveis. Neste contexto, destaca-se a importância do conhecimento químico sobre a formação dessas impurezas, dos aspectos regulatórios e da farmacovigilância para os medicamentos aprovados, a fim de evitar quaisquer riscos à saúde dos pacientes.

Palavras-chave: *N-Nitrosaminas, indústria farmacêutica, síntese orgânica, aspectos regulatórios.*

Summary: The control of impurities in pharmaceutical products show fundamental importance for the evaluation of safety and efficacy for use in humans. In this context, potentially mutagenic and carcinogenic impurities, called N-Nitrosamines, stand out. This is a class of compounds that humans are commonly exposed in small doses through tobacco and food. In the pharmaceutical aspect, at any stage of drug production, from the synthesis of the active pharmaceutical ingredient to the shelf life of each product, these impurities can be produced if an amine reacts with a nitrosating agent coexisting under appropriate conditions. Thus, drug regulatory authorities around the world, including Brazil, have established strict guidelines on N-Nitrosamine contamination for all drugs on the market, including the recall of several batches with limits above acceptable. In this context, the importance of chemical knowledge about the formation of these impurities, regulatory aspects and pharmacovigilance for approved drugs is essential, in order to avoid any risks to the health of patients.

Keywords: *N-Nitrosamines, pharmaceutical industry, organic synthesis, regulatory aspects.*

1 INTRODUÇÃO

Desde julho de 2018, as autoridades regulatórias de todo o mundo têm advertido sobre a contaminação dos medicamentos bloqueadores dos receptores da angiotensina

Il com impurezas denominadas N-Nitrosaminas, as quais são mutagênicas conhecidas e carcinógenos potenciais em humanos (PARR; JOSEPH, 2019; BHARATE, 2021). A primeira incidência foi relatada após a detecção de uma quantidade alarmante de N-Nitrosodimetilamina (NDMA) em Valsartana, de modo que a EMA anunciou o recolhimento desses produtos em todos os países europeus (TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021).

Alguns meses mais tarde, a FDA também identificou a N-nitrosodietilamina (NDEA) como a segunda impureza potencialmente mutagênica em produtos de Valsartana. Já, em março de 2019, o mesmo órgão regulatório revelou a existência de outra N-Nitrosamina, a N-nitroso-N-metil-4-aminobutírico ácido (NMBA), em Losartanas (TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021). Dez meses após o primeiro relato N-Nitrosaminas, 18% de todos os lotes de medicamentos contendo Valsartana, Losartana e Irbesartana mostraram níveis de NDMA, NDEA e/ou NMBA acima dos aceitáveis na União Europeia. Até hoje, mais de 1800 lotes de medicamentos foram recolhidos nos Estados Unidos devido à detecção de N-Nitrosaminas (WHO, 2019; BHARATE, 2021; SCHMIDTSDORFF *et al.*, 2022).

Recentemente, a preocupação global com a contaminação por N-Nitrosaminas não se restringiu somente as classes das “Sartanas”. Medicamentos como Ranitidina, Nizatidina, Metformina, Candesartana, Irbesartana, Rifampicina e Rifapentina também foram detectados com elevadas quantidades de N-Nitrosaminas (SHAIK *et al.*, 2020; TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021).

A exposição a esses compostos em limites seguros representa baixo risco de danos à saúde. No entanto, acima de níveis aceitáveis e por longo período, a exposição às N-Nitrosaminas pode aumentar o risco da ocorrência de câncer (AGLIO *et al.*, 2022). Desse modo, agências regulatórias de todo o mundo começaram a propor limites para as impurezas voláteis e não-voláteis que possam estar presentes no medicamento acabado como forma de garantir a segurança para o paciente.

A partir do conhecimento sobre a metabolização de medicamentos no organismo (farmacocinética), o presente trabalho mostrará os aspectos relevantes de como as N-Nitrosaminas são formadas e de como os Órgãos Regulatórios têm proposto ações para diminuir os seus impactos.

2 FORMAÇÃO DE N-NITROSAMINAS

Em 1874, o químico alemão Otto N. Witt reagiu uma série de compostos contendo ácido nitroso e éter com amina secundária e terciária. Os produtos da condensação foram denominados “N-Nitrosaminas” (BHARATE, 2021). A estrutura de uma N-Nitrosamina, conforme descrito na Figura 1, apresenta um grupo N-nitroso alifático ligado a uma amina, ou seja, é composto uma dupla ligação entre os átomos de nitrogênio, bem como a ligação de um desses átomos a radicais (R1 e R2) e, do outro átomo, ao oxigênio. Portanto, para a sua formação torna-se necessário a presença de grupamentos amins secundárias, terciárias, quaternárias ou outros derivados de amins (cianamidas, guanidinas, amidinas, hidroxilaminas, hidrazinas, hidrazonas e hidrazidas) como um dos precursores (TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021).

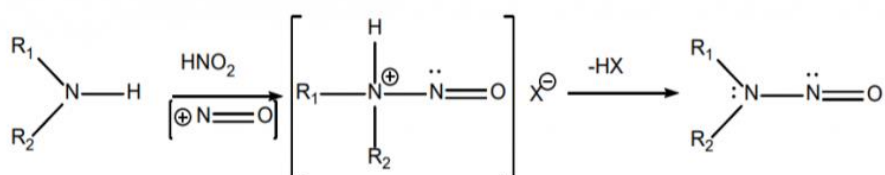


Figura 1 – Reação geral da formação de uma N-Nitrosamina.

Um dos mecanismos reacionais propostos para a sua formação, consiste na nitroação dessas aminas com ácido nitroso (HNO_2) ou nitrito (NO_2) em condições ácidas, preferencialmente em elevadas temperaturas. Trata-se de uma reação inviável em aminas primárias, visto que a nitroação produziria compostos monossustituídos e instáveis (PARR; JOSEPH, 2019; BHARATE, 2021; TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021; SCHMIDTSDORFF *et al.*, 2022).

A formação de N-Nitrosaminas também pode ser explicada na presença de oxigênio (O_2) com outros agentes nitrosantes, por exemplo, cloreto de nitrosila (NOCl), óxidos de nitrogênio (N_2O_3 , N_2O_4 , NO) e tetrafluoroborato de nitrosônio (NOBF_4) (EMA 2020; TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021).

Outra fonte dos precursores dessas impurezas são materiais como solventes, reagentes e catalisadores utilizados na fabricação do IFA (Insumo Farmacêutico Ativo) pois, os mesmos podem apresentar aminas residuais (como trimetilamina ou diisopropiltilamina). Se o processo produtivo envolver uma etapa de reação secundária (a adição de ácido nitroso usado para decompor a azida residual, por exemplo), o ácido nitroso pode entrar em contato direto com essas aminas residuais. Desse modo, as impurezas de N-Nitrosaminas podem ser transportadas para as etapas subsequentes se não houver operações adequadas de remoção e purificação no local, ou se as operações não forem otimizadas para a remoção de impurezas específicas de interesse. Por outro lado, agentes estabilizantes frequentemente incorporados em formulações cosméticas (como ácido ascórbico e sulfamato de amônio) podem funcionar como inibidores da nitroação. Consequentemente, esses agentes podem reduzir/eliminar o risco da ocorrência de N-nitrosaminas, conferindo maior estabilidade química a formulação (AGLIO *et al.*, 2022).

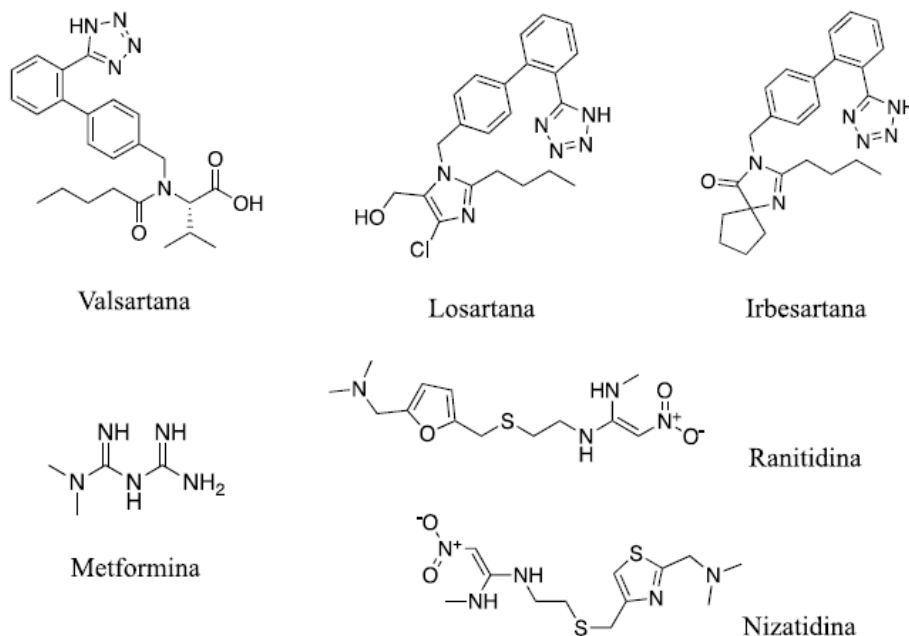
Já o nitrito pode ser proveniente de excipientes comumente utilizados, como glicolato de amido sódico e croscarmelose sódica, que estão presentes a níveis de partes por milhão, ou originados até mesmo da água. No entanto, os níveis de nitrito proveniente desta última fonte são muito baixos, tipicamente menores do que 0,01 mg/L (ASHWORTH *et al.*, 2020) de modo que se torna um risco negligenciável. Além do mais, o nitrito também é derivado do uso de materiais de embalagem nitrosantes, como nitrocelulose, que pode reagir com aminas na tinta de impressão durante o processo de selamento do blíster por aquecimento ou pode sofrer decomposição liberando óxidos nitrosos que são potentes agentes nitrosantes (SCHMIDTSDORFF *et al.*, 2022).

Ao passo que as aminas podem estar presentes em um processo de fabricação por uma variedade de razões. O IFA, os intermediários ou os materiais de partida podem apresentar grupos funcionais (amina secundária ou terciária). As aminas terciárias e quaternárias também podem ser adicionadas intencionalmente como reagentes ou catalisadores. Os solventes de amida, suscetíveis à degradação sob certas condições de reação, são outra fonte de aminas secundárias. Por exemplo, a N,N-dimetilformamida (DMF) pode sofrer hidrólise ou degradação térmica formando a dimetilamina que, no que lhe concerne reage com nitrito de sódio em meio ácido, levando à formação de NDMA (AGLIO *et al.*, 2022).

Ao se considerar a Classe de medicamentos “Sartanas”, a síntese do IFA geralmente inclui reações em várias etapas para fornecer análogos de bifênil na presença de um centro ácido, como o anel de tetrazol e a porção carboxila. Trata-se da construção das Relações entre a Estrutura e Atividade (SAR) para mimetizar o fenil “Tyr4” e/ou o grupo carboxil “Asp1” da Angiotensina – principal receptor cardíaco. O grupamento bifênil tetrazol oferece estabilidade metabólica e biodisponibilidade superior quando comparado ao substituinte carboxila e é, portanto, incluído na maioria das moléculas atualmente disponíveis no mercado (PARR; JOSEPH, 2019; TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021; KAO *et al.*, 2022). Este grupo funcional pode ser proveniente do anel bifênil nitrila por meio de uma reação de adição com uma azida, por exemplo, azida de sódio (NaN_3), azida de trimetilestanho (Me_3SnN_3) ou azida de tributilestanho (Bu_3SnN_3). Devido a sua natureza explosiva e o potencial de toxicidade em humanos, o excesso de azida da reação deve ser reagido com compostos nitritos em condições

ácidas, em que os gases nitrogênio e óxido nítrico são liberados (TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021).

Figura 2 – Estruturas químicas de insumos farmacêuticos ativos (IFA) em medicamentos que apresentaram N-Nitrosaminas

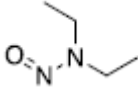
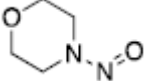
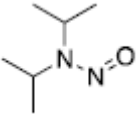
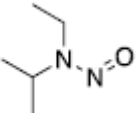
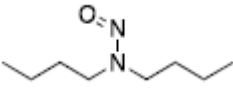
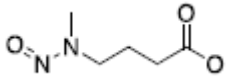
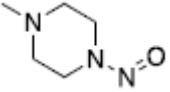
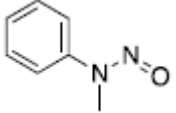


Fonte: AGLIO *et al.*, 2022.

Um exemplo prático de síntese consiste na Valsartana. Na rota de síntese desenvolvida pela Novartis, o anel tetrazol é proveniente da reação de um intermediário nitrilo com a Bu_3SnN_3 (fonte de azida). Por sua vez, o éster contendo o anel tetrazol é hidrolisado levando a formação do IFA. A partir de 2011, ao se expirar a patente, várias empresas realizaram modificações na síntese original com o intuito de aumentar o seu rendimento, como o uso da NaN_3 . Desse modo, se faz necessário o uso de solventes para a remoção do excesso, o qual foi empregado $NaNO_2$ e DMF. No caso de contaminação desses solventes é possível a formação de diferentes N-Nitrosaminas a partir da origem da dialquilamina: NDMA (dimetilamina); NDEA e NMBA (triethylamina); NDIPA (N,N-diisopropilamina) e NEIPA (N-nitrosoetilisopropilamina) já foram encontrados nos lotes de IFA (BHARATE, 2021; TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021; AGLIO *et al.*, 2022).

Tabela 1 - Estrutura química e limites de aceitação das principais N-nitrosaminas encontradas de forma individual em medicamentos (Adaptado de BHARATE, 2021 e AGLIO *et al.*, 2022)

Nome (Abreviação)	Estrutura química	Limite de Aceitação (AI) (ng/dia)
N-nitrosodimetilamina (NDMA)		96,0 ^(a)

N-nitrosodietilamina (NDEA)		26,5 ^(a)
N-nitrosomorfolina (NMOR)		27,0 ^(a)
N-nitrosodiisopropilamina (DIPNA)		96,0 ^(b)
Etilisopropil-nitrosamina (EIPNA)		26,5 ^(b)
N-nitrosodibutilamina (NDBA)		26,5 ^(b)
Ácido N-nitroso-N-metil-4-aminobutírico (NMBA)		96,0 ^(b)
N-nitroso-N'-metilpiperazina (MNP)		26,5 ^(b)
Metilfenilnitrosamina (NMPA)		34,3 ^(a)

Fonte: Autoria própria, 2022

(a) Estabelecido a partir do TD50 em estudos de carcinogenicidade; (b) Estabelecido a partir da relação estrutura atividade (QSAR).

Já a contaminação por N-Nitrosaminas no medicamento Ranitidina pode ser decorrente de três fontes. A primeira também consiste em uma análise cuidadosa do processo produtivo, em que a formação de NDMA envolve a substituição nucleofílica da monocloramina (NH_2Cl) pela fração de dimetilamina da Ranitidina para produzir um intermediário de hidrazina, oxidado para produzir NDMA. A outra possibilidade é que, durante a sua síntese, a Ranitidina pode estar contaminada com uma pequena quantidade de agentes nitrosantes que reagem com as moléculas do fármaco ao longo do tempo para produzir N-Nitrosaminas. Por fim, estudos recentes demonstraram que a presença de NDMA na Ranitidina é oriunda da degradação do IFA mesmo na ausência de agentes nitrosantes, uma vez que a instabilidade intrínseca do grupamento nitro pode causar a nitrosação. Ao se analisar a degradação forçada e a estabilidade acelerada para este fármaco, aparentemente, umidade relativa e temperatura elevadas, além da presença de luz e oxigênio, desencadeiam uma degradação rápida que promovem a formação de NDMA (TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021; AGLIO *et al.*, 2022).

Diante do exposto, é essencial a compreensão dos riscos potenciais das aminas de sofrer uma reação de nitrosação durante o processo de fabricação e armazenamento, de modo, que, se formadas é necessário operações de processo a jusante para purgar esses compostos e fornecer o controle suficiente da rota produtiva (ASHWORTH *et al.*, 2020).

3 ASPECTOS TOXICOLÓGICOS

A Agência Internacional para Pesquisa em Câncer (IARC) da Organização Mundial da Saúde (OMS) classificou várias N-Nitrosaminas com base do seu potencial cancerígeno para os seres humanos. O Grupo 2A compreende agentes “*provavelmente cancerígeno para humanos*” com evidência limitada em humanos, mas com evidências suficientes em animais experimentais, como as NDMA, NDEA, EIPNA, NMBA, DIPNA e NMPA (BHARATE, 2021; KAO *et al.*, 2022). Embora não existam evidências diretas da incidência de câncer em humanos como resultado da exposição às N-nitrosaminas, presume-se que o homem também seja sensível à ação tóxica desses compostos (AGLIO *et al.*, 2022).

As N-nitrosaminas requerem ativação metabólica para formarem diferentes íons diazônio e desempenharem sua ação carcinogênica. A primeira etapa consiste em uma hidroxilação do carbono α do grupo alquila, adjacente ao grupo N-nitroso levando a formação de N-hidroxilamina e posteriormente íon diazônio (eletrofílico). Essa reação ocorre a partir da metabolização (biotransformação) por uma monooxigenase de função mista do citocromo P450 principalmente o CYP2E1 e a sua isoforma CYP2A6, grupo de enzimas responsáveis pela metabolização de compostos. Nessa etapa ocorre a formação de um aldeído/cetona e uma N-nitrosamina primária que pode tautomerizar para um alquildiazoidróxido, seguido por um íon alquil carbônio. Tal potente eletrófilo alquilante pode reagir e formar adutos com macromoléculas nucleofílicas intracelulares, incluindo proteínas e DNA (TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021; AGLIO *et al.*, 2022).

Os adutos de DNA, por sua vez, dependem da natureza do íon diazônio formado. O alto potencial mutagênico e carcinogênico de algumas N-nitrosaminas voláteis está associado a α -hidroxilação. Alquil-nitrosaminas que apresentam um menor número de hidrogênios alfas disponíveis apresentam menor potencial mutagênico. Alguns substituintes também podem reduzir ou mesmo eliminar o potencial mutagênico e carcinogênico de N-nitrosaminas, como grupos ramificados, volumosos ou não metabolizáveis no carbono α ou próximo a ele, inibindo a ativação metabólica (CROSS; PONTING, 2021; JOHNSON *et al.*, 2021).

Como exemplos destacam-se o metildiazohidróxido e o etildiazohidróxido, intermediários metabolicamente ativos de NDMA e NDEA e são convertidos em metildiazônio e íons etildiazônio, respectivamente. Esses alquiladores altamente eletrofílicos desencadeiam a alquilação SN2 em sítios nucleofílicos de DNA. Destaca-se a forte nucleofilicidade do átomo N7 em guanina (N7G) que o torna um bom local para qualquer DNA alquilante pequeno e difusível agentes como íons alquildiazônio. No entanto, esses íons também podem atacar preferencialmente O6 de guanina (O6G) e O4 de timina (O4T), cuja alquilação produz adutos quimicamente estáveis com potencial mutagenicidade e carcinogenicidade (TUESUWAN; VONGSUTILERS, 2021; AGLIO *et al.*, 2022).

A indução de tumores pode ocorrer em diferentes órgãos (como fígado, pulmão, rins, bexiga, pâncreas, esôfago e língua), dependendo da estrutura química do composto N-nitroso, da dose, da via de exposição e da espécie animal, o que dificulta a extrapolação de dados obtidos em animais de laboratório para o homem. Doses pequenas e repetidas levam a maiores riscos de desenvolvimento de tumores quando comparadas a doses únicas e de elevada concentração. Esta situação é relevante para um cenário de exposição crônica como pela ingestão de alimentos ou medicamentos terapêuticos para tratamento de doenças crônicas (CROSS; PONTING, 2021; AGLIO *et al.*, 2022).

3.1 Legislação de n-nitrosaminas

A avaliação e o controle de impurezas mutagênicas em produtos farmacêuticos em relação ao seu risco carcinogênico estão descritos no Guia M7 (compêndio R1) do ICH (Conselho Internacional de Harmonização de Requisitos Técnicos para Produtos Farmacêuticos para Uso Humano). Essa diretriz descreve considerações sobre o gerenciamento do risco à segurança e à qualidade dos níveis de impurezas reativas de DNA (mutagênicas), as quais se esperam que apresentem riscos carcinogênicos desprezíveis (THRESHER *et al.*, 2020; AGLIO *et al.*, 2022)

De acordo com o Guia, as N-Nitrosaminas podem apresentar acentuado potencial carcinogênico, ou seja, capacidade de danificar o genoma ou à interrupção dos processos metabólicos celulares, e conseqüentemente, promover a formação do câncer (ICH, 2017). Por serem classificados como agentes genotóxicos carcinogênicos denominado “*Coorte de Preocupação*” (*Cohort of Concern*) e por se tratar de impurezas mais potentes que a maioria de compostos mutagênicos, o cálculo do limite de “*Ingestão Aceitável*” (*AI, Acceptable Intake*) baseado no conceito “*Limiar de Toxicologia*” (*TTC, Threshold of Toxicological Concern*) não deve ser aplicado (AGLIO *et al.*, 2022).

O TTC é um nível de ingestão aceitável comumente utilizado a partir da extrapolação linear de valores pré-clínicos de TD50 (a dose na qual a probabilidade de permanecer livre de tumor após administração crônica para o tempo de vida padrão ser reduzidos pela metade). No contexto do ICH M7, a abordagem baseada em TTC aplica um limite de 1,5 µg/dia como critério para um composto com dados de carcinogenicidade experimental inadequados (THRESHER *et al.*, 2020).

Para as N-Nitrosaminas, agentes cancerígenos altamente potentes, como aflatoxinas, o cálculo da AI deve ser feito para cada composto de forma individual – levando em consideração estudos de carcinogenicidade em animais –, ou da relação estrutura-atividade (*QSAR, Structure Activity Relationship*) (AGLIO *et al.*, 2022). Os valores da AI estão apresentadas na Tabela 1 para as principais N-nitrosaminas identificadas em medicamentos, considerando a exposição por toda a vida (maior do que 70 anos) estabelecido com base na TD50 em roedores. A partir desses valores e conhecendo-se a *Dose Máxima Diária (DMD)* do IFA pode ser calculado o limite diário aceitável da impureza presente no medicamento (ICH, 2017; THRESHER *et al.*, 2020).

Na ausência de mutagenicidade para uma impureza, a avaliação do potencial mutagênico pode ser feita usando previsões *in silico* de duas metodologias complementares (Quantitativas) de Relação de Estrutura Atividade estrutural (*QSAR*): um especialista baseado em regras (*rule-based expert*) e um baseado em estatísticas (*statistical-based models*). Os métodos *rule-based expert* são utilizados para verificação de alerta estruturais frequentemente encontrados em compostos mutagênicos e carcinogênicos com base no índice de similaridade estrutural entre os compostos conhecidos. Por outro lado, os modelos de *QSAR statistical-based* são utilizados para prever o desfecho toxicológico, ou seja, avaliar o potencial mutagênico *in vitro* de um ou mais compostos não testados frente a cepas de *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli* (teste Ames). A ausência de alertas estruturais pelas duas metodologias complementares (*rule-based expert* e *statistical-based expert*) é suficiente para concluir que a impureza não possui potencial mutagênico e, portanto, nenhum teste adicional precisa ser realizado (AGLIO *et al.*, 2022).

Quando o medicamento contém mais de uma N-nitrosamina como impureza existem duas alternativas para definir o limite da soma das N-nitrosaminas: (1) a soma de todas as N-Nitrosaminas presentes no produto não deve ultrapassar o limite de aceitação referente à impureza mais potente presente, e (2) os limites individuais de cada N-Nitrosamina são ajustados para assegurar que o risco total da exposição não ultrapasse o risco negligenciável. No caso de medicamentos, deve ser considerado também que nem todos são de uso crônico, ou seja, não necessitam ser administrados diariamente ao longo da vida. Cabe destacar que as avaliações de risco de câncer são baseadas nas exposições ao longo da vida conforme descrito anteriormente na explicação do conceito TTC e assumem que o risco de câncer aumenta em função da dose cumulativa (AGLIO *et al.*, 2022).

Autoridades regulatórias (FDA - Agência de Medicamentos e Alimentos dos Estados Unidos da América -, EMA - Agência Europeia de Medicamentos - e, Anvisa - Agência Nacional de Vigilância Sanitária) solicitaram que os fabricantes de medicamentos revisassem o processo de fabricação e os produtos acabados para todos quanto à presença de impurezas de N-Nitrosaminas. Isso deve ser feito usando uma abordagem baseada em risco para priorizar avaliações e testes subsequentes (THRESHER *et al.*, 2020; DATTATRAYA *et al.*, 2022; KAO *et al.*, 2022).

Na avaliação de risco (etapa 1), deve-se identificar o risco de formação de N-Nitrosaminas envolvido no processo de síntese do IFA, observando fatores como a combinação de reagentes, solventes, materiais de partida utilizados, os intermediários formados, as possíveis impurezas e produtos de degradação. Ademais, o risco deve ser determinado para todo o processo fabricação do produto acabado e durante o armazenamento ao longo de todo seu curso útil (SCHMIDTSDORFF *et al.*, 2021; ANVISA, 2022a; ANVISA, 2022b; DATTATRAYA *et al.*, 2022).

Caso na etapa 1 seja identificado o risco de presença de nitrosaminas, a empresa deve seguir para a Etapa 2 (realização de testes confirmatórios) para confirmar ou não a presença das impurezas no IFA ou produto acabado. Para a realização desses testes o fabricante deve utilizar métodos analíticos adequados e sensíveis. Então, caso os níveis encontrados nos testes estejam abaixo de 10% do limite de ingestão aceitável, considera-se ausência de N-Nitrosaminas (ANVISA, 2021). De acordo com o guia ICH M7, para cada classe de impureza é necessário um tipo de conduta ou ação de controle. Sendo assim, para as impurezas de classe 1 (carcinógenos mutagênicos conhecidos) deve-se avaliar se a quantidade encontrada durante o processo é superior aos níveis aceitáveis, caso seja, é necessário avaliar, por exemplo, se durante o processo de síntese/fabricação do produto existem etapas capazes de eliminar a impureza, utilizando o cálculo do fator de purga aliado aos métodos analíticos para detecção. Ao final do processo de síntese/ fabricação, compara-se os níveis encontrados no produto final com os níveis aceitáveis para esse produto específico e aplica-se estratégias de controle (BORTHS *et al.*, 2021; SCHMIDTSDORFF *et al.*, 2021; DATTATRAYA *et al.*, 2022).

Por último, após a conclusão da etapa dos testes confirmatórios, o fabricante deve protocolar junto a agência sanitária as petições pós-registro, quando aplicáveis. Além da inclusão de testes confirmatórios na especificação do produto, outras alterações pós-registro podem ser aplicadas para reduzir o risco da presença de N-Nitrosaminas (ANVISA, 2022).

A ANVISA, alinhada com agências internacionais como a FDA e a EMA, vem desde julho de 2018 acompanhando a presença de N-nitrosaminas em medicamentos da classe das “Sartanas” e reportando níveis considerados inaceitáveis delas. A RDC 283/2019 que dispõe sobre investigação, controle, e eliminação de N-nitrosaminas potencialmente carcinogênicas em antagonistas de receptor de angiotensina II. De modo que estabelece que todas as empresas fabricantes, importadoras e fracionadoras de insumos farmacêuticos, assim como empresas fabricantes e importadoras de medicamentos, e farmácias de manipulação devem avaliar a presença de impurezas de N-nitrosaminas em seus produtos de acordo com metodologia validada nos termos da RDC 166/2017101 ou Guia Q2 do ICH (2005) (ANVISA, 2019).

Em agosto de 2019, após a detecção de NDMA em medicamentos contendo ranitidina, a ANVISA suspendeu a importação, uso, e comercialização do insumo farmacêutico ranitidina por meio da RE 3.259/2020.104 (ANVISA, 2020). A Agência também suspendeu 14 processos de fabricação, importação, distribuição e comercialização de medicamentos contendo losartana, valsartana e irbesartana. Em julho de 2021, a ANVISA disponibilizou o “Guia sobre o Controle de Nitrosaminas em Insumos Farmacêuticos Ativos e Medicamentos” (Guia nº 50/2021 – versão 1) no qual está expresso o entendimento da Agência sobre as práticas aconselháveis em relação a procedimentos, rotinas e métodos apontados como adequados ao cumprimento de requisitos técnicos ou administrativos requeridos pelos marcos legislativos ou

regulatório da Agência (ANVISA, 2021). Em 2022, a Anvisa disponibilizou a Versão 2 do Guia 50/2021 e publicou a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 677/2022 sobre o controle N-Nitrosaminas em insumos farmacêuticos ativos (IFA) e medicamentos, a qual prevê o cumprimento dos requisitos de forma escalonada, em etapas, conforme o risco atribuído a cada produto. Tanto a regulamentação quanto o guia são aplicáveis a novos registros de medicamentos, assim como alterações pós-registro que possam resultar em formação de N-Nitrosaminas, como mudanças relacionadas ao IFA, à composição e à embalagem do medicamento (ANVISA, 2022a; ANVISA, 2022b).

A avaliação de risco deve considerar reagentes e materiais, recuperação e degradação de materiais, contaminação cruzada, processo de fabricação e interação entre API, excipientes e embalagem. Além disso, a geração *in situ* de nitrosaminas deve ser considerada, a fim de entender a formação e contaminação de N-Nitrosaminas (SCHMID TSDORFF *et al.*, 2021).

CONCLUSÃO

Desde a descoberta da presença N-Nitrosaminas, associada à comprovação científica do seu potencial mutagênico e carcinogênico em mamíferos, extensas pesquisas têm sido realizadas para entender a formação e ocorrência destes contaminantes nos mais diversos produtos de consumo, especialmente no concerne da indústria farmacêutica. É fundamental a compreensão das características das moléculas e os fatores físico-químicos que permitem a formação desses compostos para não só propor alternativas que assegurem a ausência formação das impurezas, mas, também, para a avaliação do risco de cada composto formado. Do mesmo modo, os aspectos toxicológicos devem ser considerados, uma vez que a estrutura desses compostos interfere diretamente tanto no mecanismo de reação no corpo humano quanto nos limites toleráveis propostos pelas agências reguladoras internacionais e nacionais. Atualmente, diante de todo o conhecimento químico, não controlar ou não mitigar os riscos e os efeitos das N-Nitrosaminas é inaceitável, uma vez que esses compostos comprovadamente acarretam malefícios para a saúde pública. O paciente, ao administrar um medicamento, busca em um fármaco com três principais características: qualidade, eficácia e segurança, de modo que é de responsabilidade de toda cadeia produtiva prover esses padrões para todas as classes de medicamentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGLIO T., *et al.* N-Nitrosaminas em medicamentos: um problema atual, uma realidade antiga. *Quim. Nova*, Vol. XY, No. 00, 1-18, 2022.

ANVISA, 2019. RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA-RDC Nº 283, DE 17 DE MAIO DE 2019. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2019/rdc0283_17_05_2019.pdf.

Acesso em julho de 2022.

ANVISA, 2020. RESOLUÇÃO-RE Nº 3.259, DE 26 DE AGOSTO DE 2020. Disponível em: https://crf-pr.org.br/uploads/noticia/40481/62nXPmEnQqG7_edVs-qR-XkPMSOHvtwB.pdf. Acesso em julho de 2022.

ANVISA, 2021. Guia sobre o Controle de Nitrosaminas em Insumos Farmacêuticos Ativos e Medicamentos. Guia nº 50/2021 – versão 1. Disponível em: [http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/6279847/\(1\)Guia_50_Nitrosaminas_rev_final_para+publica%C3%A7%C3%A3o.pdf/12af2904-e5a7-4774-9528-f4f633cac2bf](http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/6279847/(1)Guia_50_Nitrosaminas_rev_final_para+publica%C3%A7%C3%A3o.pdf/12af2904-e5a7-4774-9528-f4f633cac2bf). Acesso em julho de 2022.

ANVISA, 2022a. Guia sobre o Controle de Nitrosaminas em Insumos Farmacêuticos Ativos e Medicamentos. Guia nº 50/2021 – versão 2. 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 julho de 2022.

ANVISA, 2022b. RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 677, DE 28 DE ABRIL DE 2022. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/6279847/RDC_677_2022_.pdf/39723d56-7fd4-4f1a-af2d-218358d67540. Acesso em julho de 2022.

ASHWORTH I., *et al.* Potential for the Formation of N-Nitrosamines during the Manufacture of Active Pharmaceutical Ingredients: An Assessment of the Risk Posed by Trace Nitrite in Water. *Org. Process Res. Dev.* 24, p. 1629–1646, 2020.

BHARATE S. Critical Analysis of Drug Product Recalls due to Nitrosamine Impurities. *J. Med. Chem.* 64, p. 2923–2936, 2021.

BORTHS C., *et al.* Nitrosamine Reactivity: A Survey of Reactions and Purge Processes. *Org. Process Res. Dev.* 25, 8, p. 1788–1801, 2021.

CROSS K., **PONTING D.** Developing Structure-Activity Relationships for N-Nitrosamine Activity. *COMTOX*. S2468-1113 (21), 2021.

DATTATRAYA J., *et al.* A Review on Nitrosamine Impurities Present in Drugs. *Pharmaceutical Resonance*. Vol. 4 - Issue 2, 2022.

EMA, 2017. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-m7-assessment-control-dna-reactive-mutagenic-impurities-pharmaceuticals-limit-potential#current-version--section>. Acesso em julho de 2022.

IARC. Some N-nitroso compounds, IARC: Lyon, France, 1978.

JOHNSON G., *et al.* Permitted daily exposure limits for noteworthy N-nitrosamines. *Environ Mol Mutagen.* 62(5), p. 293-305, 2021.

KAO Y., *et al.* A substructure-based screening approach to uncover N-nitrosamines in drug substances. *Journal of Food and Drug Analysis*. 30, p. 150-162, 2022.

PARR M., JOSEPH J. NDMA impurity in valsartan and other pharmaceutical products: Analytical methods for the determination of N-nitrosamines. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 164, p. 536–549, 2019.

SCHMIDTSDORFF S., *et al.* Risk assessment for nitrosated pharmaceuticals: A future perspective in drug development. *Arch. Pharm.* 355, 2021.

SHAIK K., *et al.* Regulatory Updates and Analytical Methodologies for Nitrosamine Impurities Detection in Sartans, Ranitidine, Nizatidine, and Metformin along with Sample Preparation Techniques, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 20, 2020.

SHEN R., ANDREWS S. NDMA formation kinetics from three pharmaceuticals in four water matrices. *Water Research*. 45, p. 5687-5694, 2021.

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

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

WHO, 2019. Disponível em: https://www.who.int/medicines/publications/drugalerts/InformationNote_Nitrosamine-impurities. Acesso em julho de 2022.

ZHOU W., *et al.* Formation potential of nine nitrosamines from corresponding secondary amines by chloramination. *Chemosphere*. 95, p. 81–87, 2014.