

Guia sobre o Controle de Nitrosaminas em Insumos Farmacêuticos Ativos e Medicamentos

Guia nº 50/2021 – versão 2



ANVISA

Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa

2022

Guia sobre o Controle de Nitrosaminas em Insumos Farmacêuticos Ativos e Medicamentos

VIGENTE A PARTIR DE 03/05/2022

Este Guia expressa o entendimento da Anvisa sobre as melhores práticas com relação a procedimentos, rotinas e métodos considerados adequados ao cumprimento de requisitos técnicos ou administrativos exigidos pelos marcos legislativo e regulatório da Agência.¹

Trata-se de instrumento regulatório não normativo, de caráter recomendatório e não vinculante, sendo, portanto, possível o uso de abordagens alternativas às proposições aqui dispostas, desde que compatíveis com os requisitos relacionados ao caso concreto. A inobservância ao conteúdo deste documento não caracteriza infração sanitária, nem constitui motivo para indeferimento de petições, desde que atendidos os requisitos exigidos pela legislação.

As recomendações contidas neste Guia produzem efeitos a partir da data de sua publicação no Portal da Anvisa.

¹[Portaria nº 162, de 12 de março de 2021](#), que dispõe sobre as diretrizes e os procedimentos para melhoria da qualidade regulatória na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa).

Copyright©2021. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. A reprodução parcial ou total deste documento por qualquer meio é totalmente livre, desde que citada adequadamente a fonte. A reprodução para qualquer finalidade comercial está proibida.

SUMÁRIO

1.	ESCOPO	4
2.	INTRODUÇÃO	4
3.	BASE LEGAL	5
4.	ASPECTOS QUÍMICOS E REACIONAIS	6
a)	Formação de nitrosamina como contaminante em processo de obtenção de Insumos Farmacêuticos Ativos	10
5.	GERENCIAMENTO DE RISCO	13
6.	FATORES DE PRIORIZAÇÃO PARA AVALIAÇÃO DE RISCO (ETAPA 1)	16
a)	Componentes básicos	16
b)	Avaliação de purga	17
7.	TESTES CONFIRMATÓRIOS (ETAPA 2)	18
a)	Método analítico	18
b)	Lotes a serem testados	19
8.	ESTRATÉGIA DE CÁLCULO PARA A ATRIBUIÇÃO DE LIMITES DE ACEITAÇÃO	19
a)	Limites para nitrosamina única	20
b)	Mais de uma nitrosamina	21
c)	Nitrosaminas novas	22
d)	Abordagem <i>Less Than Lifetime</i>	23
9.	GLOSSÁRIO	25
10.	REFERÊNCIAS	25

1. ESCOPO

Este documento apresenta recomendações quanto ao controle de nitrosaminas em todos os Insumos Farmacêuticos Ativos (IFAs) sintetizados quimicamente e medicamentos para uso humano que os contenham, bem como produtos biológicos, quando cabível.

As recomendações são igualmente aplicáveis para alterações pós-registro que possam resultar em formação de nitrosaminas, como mudanças relacionadas ao IFA, à composição e à embalagem do medicamento, não se restringindo exclusivamente a essas.

2. INTRODUÇÃO

As N-nitrosaminas constituem uma classe de compostos caracterizados pela ligação de um grupo nitroso (-N=O) a um grupo funcional amina (-NR₂). Dentre os compostos desta classe, estão alguns agentes mutagênicos, genotóxicos e potencialmente carcinogênicos em humanos e, por esse motivo, devem ser controlados a níveis considerados aceitáveis e seguros. Esses compostos podem ser comumente encontrados na água, em alimentos defumados e grelhados, laticínios e vegetais e sua exposição dentro de limites seguros representa baixo risco de agravos à saúde. No entanto, a exposição acima de níveis aceitáveis e por longo período pode aumentar o risco de câncer (FDA 2020a).

Em 2018, as agências reguladoras em todo o mundo ficaram cientes da presença de nitrosaminas acima dos níveis permitidos em medicamentos, após fabricantes de insumos farmacêuticos ativos do grupo de medicamentos comumente denominados de “sartanas” – os antagonistas dos receptores de angiotensina II, utilizados para controle da pressão arterial – emitirem alertas de sua possível presença nessa classe de medicamentos.

Desde então, essas agências têm promovido ações no intuito de proteger a saúde dos pacientes da exposição às nitrosaminas em medicamentos acima dos níveis considerados aceitáveis. No Brasil, as ações de controle promovidas pela Anvisa foram iniciadas com inspeções realizadas em 30 empresas fabricantes de medicamentos, com 111 produtos tendo sido inspecionados. Como resultado, 31 ações sanitárias foram efetuadas, incluindo interdições, suspensões e recolhimentos. A fonte da contaminação dos medicamentos foi identificada como sendo oriunda principalmente da presença de solventes em condições químicas que favorecem a formação de nitrosaminas.

Diante do caso das “sartanas”, as principais agências reguladoras do mundo, juntamente com as empresas fabricantes de medicamentos, começaram a investigar se outros medicamentos também poderiam apresentar nitrosaminas acima de níveis aceitáveis. Em 2019, foi reportada a presença de nitrosaminas em outras classes de medicamentos, como nizatidina, ranitidina e metformina. Adicionalmente, foi evidenciada possível formação de nitrosaminas a partir do material de embalagem primária contendo nitrocelulose.

Como parte desse processo de investigação, constatou-se, por exemplo, que a presença de nitrosaminas em ranitidina apresentou uma fonte diversa da anteriormente encontrada em outros produtos. Para este fármaco, a formação de dimetilnitrosamina (NDMA) é originária de uma degradação intermolecular que ocorre ao longo do armazenamento do produto e é acelerada pelo armazenamento em temperaturas superiores à temperatura ambiente. Tais condições podem resultar em exposição do consumidor a níveis inaceitáveis dessa impureza (FDA 2020b). Há ainda evidências de que a taxa de formação deste contaminante está ligada à determinada morfologia do cristal da molécula (King et al. 2020).

Na Europa, nos meses seguintes à descoberta, diversos fabricantes do insumo ranitidina tiveram seus Certificados de Adequabilidade (*Certificate of Suitability* - CEP) revogados pelo *European Directorate for the Quality of Medicines* (EDQM). Destaca-se ainda que os medicamentos contendo cloridrato de ranitidina estão disponíveis para a população mundial há mais de 30 anos e são usados para o tratamento de úlceras,

esofagites e refluxos gástricos, sem notificações de eventos adversos graves, o que reforça a necessidade de avaliação e controle das nitrosaminas em todas as classes de medicamentos.

É importante enfatizar que embora exista um risco muito baixo de nitrosaminas estarem presentes em produtos biológicos, estes não podem ser definitivamente descartados. À luz do conhecimento científico atual, sabe-se que tais riscos se concentram, por exemplo, em produtos com fragmentos sintetizados quimicamente, aqueles embalados em blísteres contendo nitrocelulose, produtos biológicos com excipientes em sua composição, ou em que haja a adição intencional de agentes nitrosantes no processo de fabricação (EMA, 2020).

Neste sentido, embora não se espere que as nitrosaminas se formem durante a fabricação da maioria dos IFAs e dos produtos acabados (EMA 2020b), recomenda-se fortemente que os fabricantes, distribuidoras e fracionadoras de IFAs e empresas fabricantes e importadoras de medicamentos avaliem seus produtos quanto à possível presença destes contaminantes e, tomem as medidas de precaução necessárias para minimizar o risco e garantir a segurança desses produtos.

Este guia apresenta recomendações para o controle de nitrosaminas em medicamentos, bem como esclarece a responsabilidade das empresas, apresenta estratégias de cálculos de limites e aborda outros conceitos. No entanto, ressalta-se que este é um documento que pode ser alterado à medida que novos estudos e informações estejam disponíveis no que tange a essa área do conhecimento, incluindo limites aceitáveis de exposição às nitrosaminas, tendo em vista a ausência de estudos conclusivos sobre a ingestão a longo prazo.

3. BASE LEGAL

Lei nº 6360, de 23 de setembro de 1976, que dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos;

Resolução RDC nº 73, de 07 de abril de 2016, que dispõe sobre mudanças pós-registro, cancelamento de registro de medicamentos com princípios ativos sintéticos e semissintéticos;

Resolução RDC nº 76, de 02 de maio de 2016, que dispõe sobre a realização de alteração, inclusão e cancelamento pós-registro de medicamentos específicos.

Resolução RDC nº 166, de 24 de julho de 2017, que dispõe sobre a validação de métodos analíticos;

Resolução RDC nº 200, de 26 de dezembro de 2017, que dispõe sobre os critérios para a concessão e renovação do registro de medicamentos com princípios ativos sintéticos e semissintéticos, classificados como novos, genéricos e similares;

Resolução RDC nº 359, de 27 de março de 2020, que institui o Dossiê de Insumo Farmacêutico Ativo (DIFA) e a Carta de Adequação de Dossiê de Insumo Farmacêutico Ativo (CADIFA);

Resolução RDC nº 412, de 20 de agosto de 2020, que estabelece os requerimentos e condições para a realização de estudos de estabilidade para fins de registro e alterações pós-registro de produtos biológicos;

Instrução Normativa nº 65, de 20 de agosto de 2020, regulamenta a classificação das alterações pós-registro e condições e documentos técnicos necessários para instruir as petições de alteração pós-registro e de cancelamento de registro dos produtos biológicos;

Resolução RDC nº 511, de 27 de maio de 2021, que dispõe sobre a admissibilidade de códigos farmacêuticos estrangeiros.

Resolução RDC nº 413, de 20 de agosto de 2021, que dispõe sobre alterações pós-registro e cancelamento de registro de produtos biológicos;

Resolução RDC nº 576, de 11 de novembro de 2021, que dispõe sobre a notificação de medicamentos de baixo risco;

Resolução RDC nº 625, de 09 de março de 2022, que dispõe sobre os requisitos mínimos relativos à obrigatoriedade, por parte das empresas detentoras de registros de medicamentos, de comunicação da implementação da ação de recolhimento de medicamentos às autoridades sanitárias competentes e aos consumidores, em hipótese de indícios suficientes ou comprovação de desvio de qualidade que representem risco, agravo ou consequência à saúde, bem como por ocasião de cancelamento de registro relacionado à segurança e eficácia;

Resolução RDC nº 658, de 30 de março de 2022, que dispõe sobre as diretrizes gerais de boas práticas de fabricação de medicamentos;

Resolução RDC nº 677, de 28 de abril de 2022, que dispõe sobre avaliação de risco e controle de nitrosaminas potencialmente carcinogênicas em Insumos Farmacêuticos Ativos (IFA) e medicamentos de uso humano.

4. ASPECTOS QUÍMICOS E REACIONAIS

As N-nitrosaminas possuem a fórmula geral descrita a seguir:

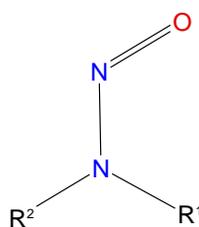


Figura 1- Estrutura geral de N-nitrosaminas.

A química das nitrosaminas tem sido estudada e documentada desde o século passado, tendo esse campo de estudos sido impulsionado na década de 1950 pelas observações de Magee e Barnes (1956) que relacionaram essas substâncias ao surgimento de câncer. Dados obtidos na Noruega, no final da década de 50 e início da década de 60, já apontavam a presença de nitrosaminas como causa de hepatotoxicidade em animais alimentados com ração tratada com nitrito (Ender et al. 1964).

Na verdade, a existência desses compostos é disseminada. Fong e Chan (1973) observaram que a capacidade dos *Staphylococcus aureus* reduzir NO_3^- (nitrato) a NO_2^- (nitrito) a partir de sais presentes em pescados, poderia levar à produção de nitrosaminas por meio da reação do nitrito formado com a trimetilamina, substância presente em grandes quantidades em peixes em decomposição. Água e alimentos defumados também são comumente citados como fontes de nitrosaminas.

A toxicidade genética das nitrosaminas ocorre via ativação do sistema microsomal P-450 (CYP 450) pela ação de enzimas. A ativação envolve a produção de íons diazônio, que se decompõem levando à

formação de carbocátions, que são espécies positivamente carregadas e eletrofílicas capazes de se ligarem ao DNA (Rath & Canaes 2009, Carlson et al. 2017).

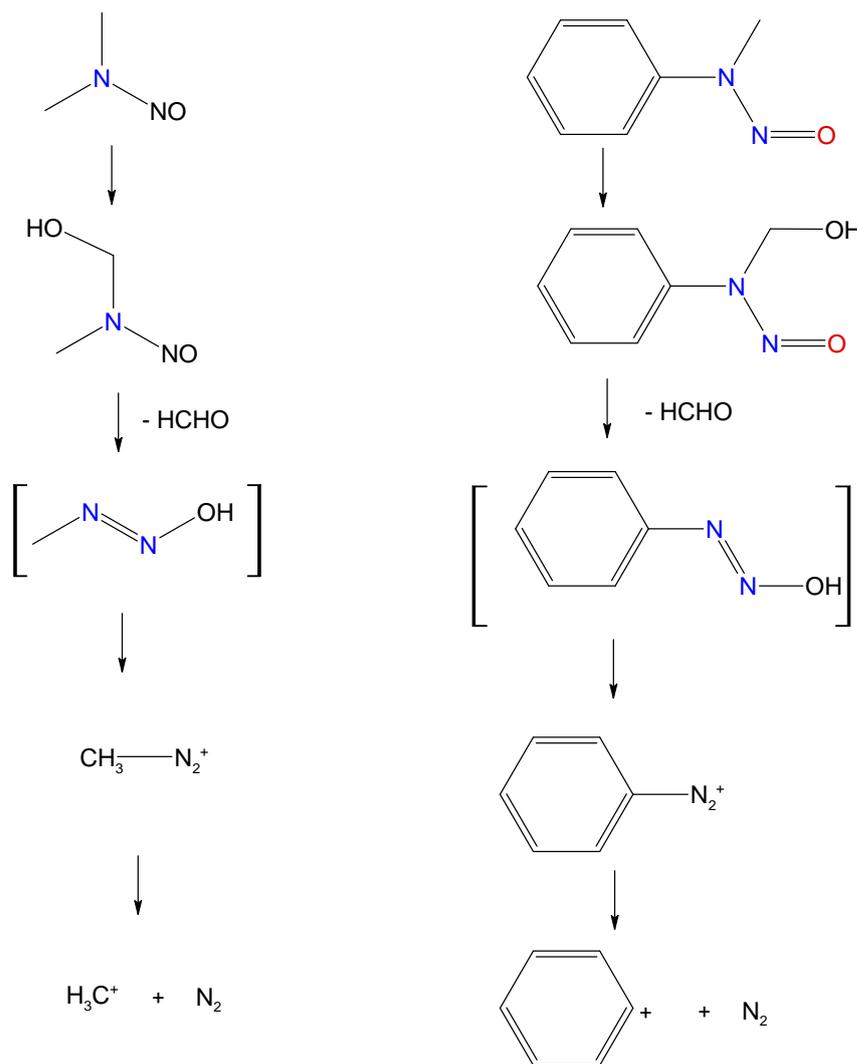


Figura 2- Hidroxilação de nitrosaminas mediada pelo sistema P-450 e posterior geração de íons diazônio. Adaptado de EMA (2020a) e (Rath & Canaes 2009).

Quimicamente, as nitrosaminas podem ser formadas a partir de aminas e agentes nitrosantes (geralmente nitrogênio oxidado contendo grupos NOx) sob certas condições de reação. A nitrosação de aminas secundárias (Fig. 3B), terciárias e compostos de amônio quaternário pelo ácido nitroso é um exemplo geral de formação desses compostos. O ácido nitroso é um composto instável obtido a partir do nitrito de sódio em meio ácido levando à geração do íon nitrosônio, o qual é responsável pela N-nitrosação de aminas (NO⁺) (Fig. 3A).



Figura 5 - Nitrosação da dimetilamina (DMA) e formação de dimetilnitrosamina (NDMA).

Da mesma forma, a nitrosação do ácido *N*-metil-4-aminobutanóico (MBA) leva a formação do carboxipropilmetilnitrosamina (NMBA):

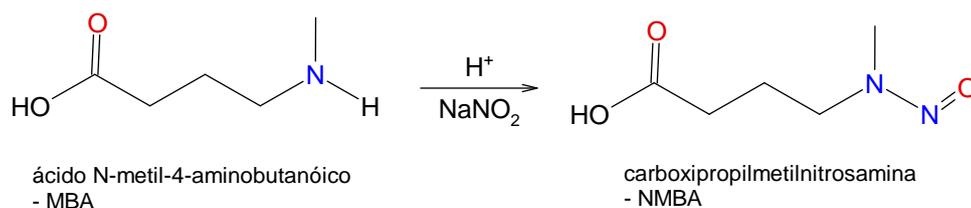


Figura 6 - Nitrosação do ácido *N*-metil-4-aminobutanóico (MBA) e formação do carboxipropilmetilnitrosamina (NMBA).

Tanto a NDMA quanto a NMBA foram detectadas como impurezas advindas da síntese de IFAs antagonistas dos receptores de angiotensina II (EMA 2020, FDA 2020). As reações acima descrevem o que provavelmente ocorreu para que fossem geradas as nitrosaminas NDMA e NMBA, ou seja, formação de ácido nitroso *in situ* oriundo da presença de nitrito de sódio, levando a formação do agente nitrosante (NO^+) e consequente nitrosação das amins DMA e MBA, conforme Figura 3A (EMA 2020).

Sabe-se que outros compostos contendo grupos NO_x , como sais de nitrito e nitritos de alquila, anidrido nitroso (N_2O_3), tetróxido de dinitrogênio (N_2O_4), haletos de nitrosila (NOCl), nitrosiltiocianato e nitrosofenol, dentre outros, são capazes de nitrosar amins (Fig. 7 a 9). Processos como cura da carne, maltagem antes da fermentação ou durante reações químicas podem levar a produção de alguns desses compostos. O óxido nítrico é capaz de nitrosar na presença de metais e compostos organometálicos (EMA 2020a).

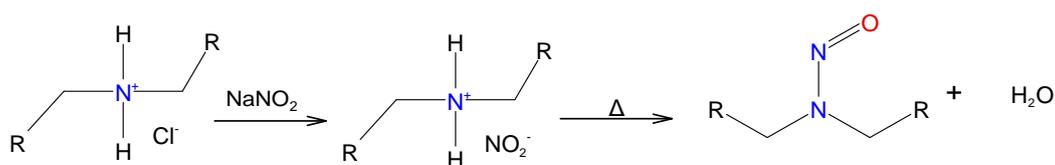


Figura 7 - Formação de nitrosamina secundária a partir de sal de amônio e nitrito de sódio.

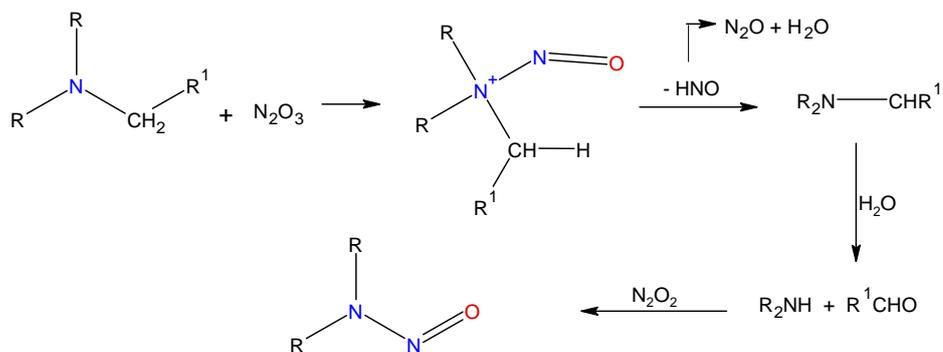


Figura 8 - Formação de nitrosamina a partir de N_2O_3 como agente nitrosante.

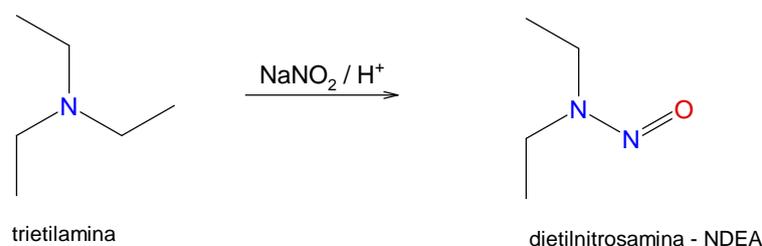


Figura 9 - Desalquilação nitrosativa da trietilamina e formação da nitrosamina dietilnitrosamina (NDEA).

a) Formação de nitrosamina como contaminante em processo de obtenção de Insumos Farmacêuticos Ativos

Uma das principais causas da formação de nitrosaminas como contaminantes em IFA é a presença simultânea de amins secundárias ou terciárias e de agentes nitrosantes, fontes de NOx (NaNO₂, N₂O₃ por exemplo). Não apenas o uso deliberado desses compostos na mesma etapa pode levar à formação de nitrosaminas, mas, também, o carreamento de amins ou fontes de NOx de etapas prévias até etapas subsequentes pode gerar uma condição propícia à formação de nitrosaminas. Reagentes, materiais de partida, solventes e catalisadores contaminados podem também levar a formação de nitrosaminas durante etapas sintéticas.

As amins podem também ser geradas *in situ*. Como exemplo, tem-se o solvente dimetilformamida (DMF) que pode sofrer hidrólise ácida ou básica em condições favoráveis e gerar a dimetilamina (DMA), que é suscetível à nitrosação (Fig. 10).

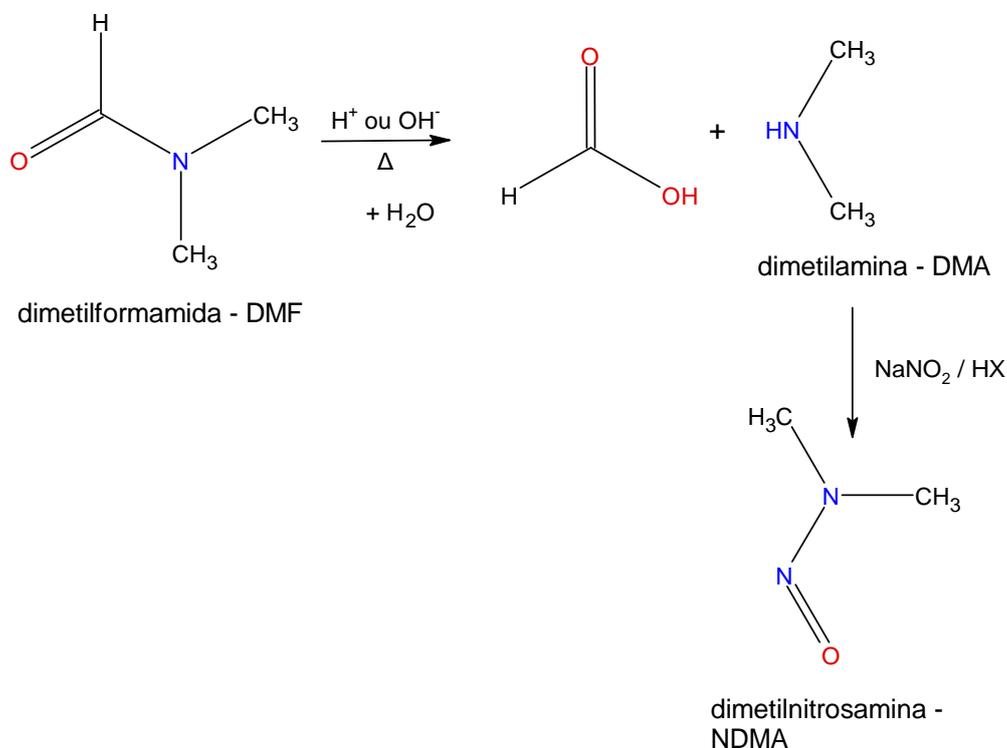


Figura 10 - Hidrólise da dimetilformamida (DMF) e formação de NDMA.

A dimetilamina também pode constar como impureza no solvente dimetilformamida (DMF), advinda do próprio processo de síntese da DMF. De forma semelhante, o solvente metilpirrolidona (NMP) pode sofrer hidrólise e gerar substrato passível de nitrosação (Fig. 11) (Klein 2017, EMA 2020).

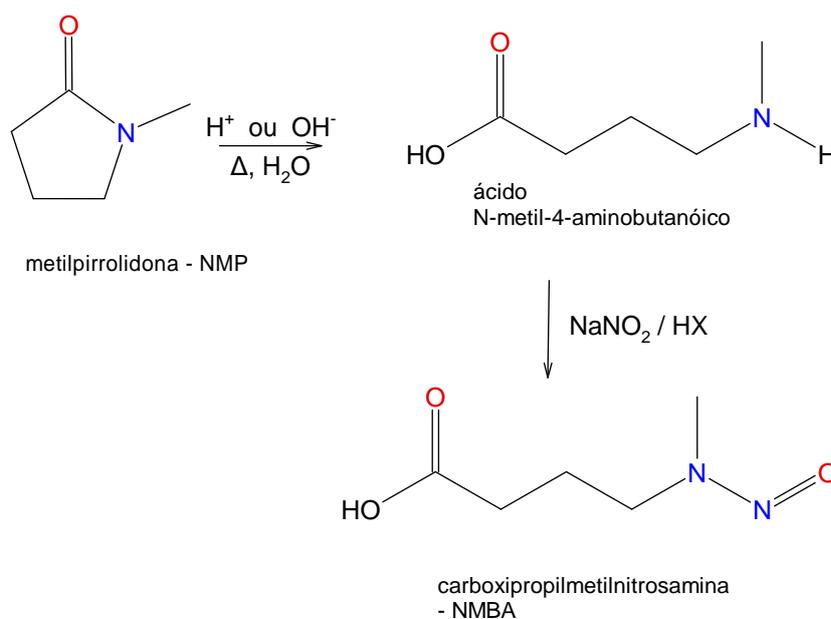


Figura 11 - Hidrólise da metilpirrolidona (NMP) e formação de NMBA.

Os casos acima mencionados constituem possíveis causas da presença das nitrosaminas NDMA e NMBA em alguns processos de obtenção de IFAs (EMA 2020), exemplificando como as condições do processo devem ser avaliadas quanto ao potencial de formação de amins suscetíveis à nitrosação, principalmente quando são empregados agentes capazes de gerar espécies nitrosantes, mesmo que em etapas distintas do processo, já que o carregamento de impurezas de uma etapa à outra pode levar a riscos de formação de nitrosaminas. Por exemplo, o nitrito utilizado em uma determinada etapa pode ser carregado a etapas subsequentes, passando por processos de *work-up*, cristalização ou por outras operações de purificação efetuadas (EMA 2020, FDA 2020).

Além das transformações de insumos empregados no processo, exemplificadas com os casos de hidrólise de DMF e NMP, reações diretas entre sais de amônio e agentes nitrosantes também podem ocorrer. Por exemplo, os catalisadores brometo de tetrabutilamônio (TBAB) ou cloridrato de trietilamina (TEA.HCl) sofrem desalquilação nitrosativa, reação semelhante à apresentada na Figura 9. Não obstante, o solvente dimetilacetamida e outras amidas podem seguir o mesmo padrão de degradação mostrado nas Figuras 10 e 11, gerando amins passíveis de nitrosação.

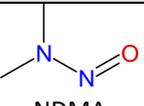
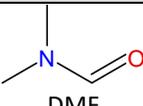
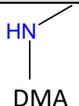
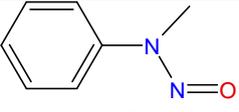
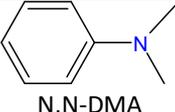
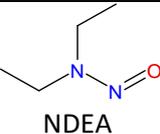
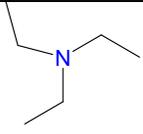
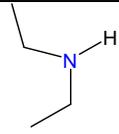
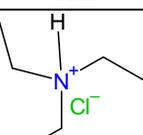
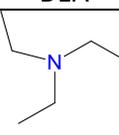
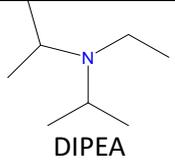
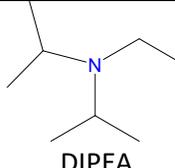
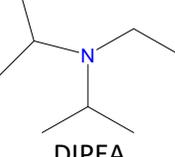
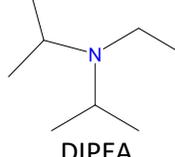
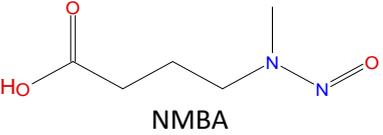
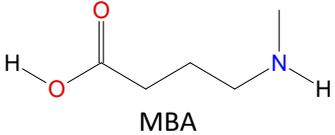
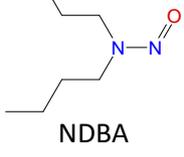
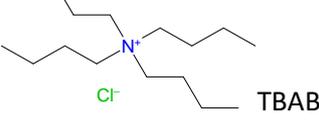
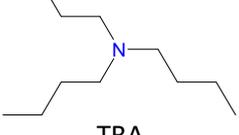
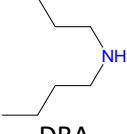
Devido ao amplo emprego de amins em diversos processos de síntese, é possível que estas estejam presentes como contaminantes em diversos insumos. Adicionalmente, é possível a presença de amins menos substituídas em reagentes como amins terciárias ou sais de amônio. Por exemplo, di-isopropilamina e isopropiletilamina são possíveis contaminantes da di-isopropiletilamina (DIPEA), assim como dietilamina é uma provável impureza presente na trietilamina (TEA). Além disso, catalisadores de transferência de fase como cloridrato de trietilamina (TEA.HCl) foram identificados como potencial fonte de trietilamina e dietilamina (EMA 2020).

É de crucial importância a avaliação do processo de obtenção de um insumo farmacêutico ativo (IFA) por completo. A possibilidade de carregamento de um determinado substrato de uma etapa do processo à outra, o uso de reagentes que possuem em seu perfil de contaminantes amins ou potenciais agentes nitrosantes e as condições do processo, como temperatura e pH que possam favorecer a degradação de reagentes ou solventes, são alguns exemplos importantes a serem observados.

Nesse sentido, é importante o conhecimento do grau de pureza dos materiais introduzidos e suas potenciais impurezas. Contaminações dentro de uma mesma unidade fabril ou advindas de recuperações/reutilizações de solventes ou materiais conduzidos por terceiros devem sempre ser consideradas

nas avaliações de risco dos processos de síntese. Possíveis combinações críticas que devem ser observadas são situações em que as condições gerais de formação de nitrosaminas estão presentes como nos exemplos da Tabela 1.

Tabela 1 – Exemplos de combinações críticas que podem levar a formação de nitrosaminas.

Nitrosamina formada	Fonte de NOx	Fonte da amina	Amina nitrosada
 NDMA	NaNO ₂	 DMF	 DMA
 NMPA	NaNO ₂	 N,N-DMA	 N,N-DMA
 NDEA	NaNO ₂	 TEA	 DEA
		 TEA.HCl	 TEA
 DIPNA	NaNO ₂	 DIPEA	 DIPEA
 EIPNA	NaNO ₂	 DIPEA	 DIPEA
 NMBA	NaNO ₂	 NMP	 MBA
 NDBA	NaNO ₂	 TBAB	 TBA
		 DBA	

Além da nitroação de aminas, também devem ser consideradas, durante a avaliação, outras condições menos clássicas que permitem a formação de nitrosaminas citadas na literatura (López-Rodríguez et

al. 2020), como a redução de nitraminas, oxidação de hidrazinas e formação a partir de compostos organometálicos.

5. GERENCIAMENTO DE RISCO

Sugere-se que as empresas utilizem os princípios de gerenciamento de risco descritos no Guia ICH Q9 - *Quality Risk Management* (ICH 2005) como suporte na realização das análises de risco. Neste presente guia propomos a realização desta análise em três etapas: Avaliação de Risco (1), Testes Confirmatórios (2) e Alterações Pós-Registro (3).

A Etapa 1 denominada Avaliação de Risco consiste na identificação e avaliação do risco. Sugere-se que esta etapa seja iniciada pela análise da rota de síntese do IFA, que poderá ser feita pelo fabricante, distribuidor ou fracionador do IFA, detentor do registro do IFA (*holder*) ou ainda pela fabricante do medicamento, caso esta detenha a rota de síntese completa do ativo. Após essa avaliação, a empresa prosseguirá com a análise do processo produtivo do produto acabado.

Caso seja identificado risco de presença de nitrosaminas como resultado da Etapa 1, a empresa deve prosseguir para a Etapa 2 e realizar os testes confirmatórios, a fim de confirmar ou refutar a presença de nitrosaminas no IFA ou produto acabado, a depender da origem do risco. Para isso, a empresa deverá utilizar métodos analíticos adequadamente sensíveis para a quantificação dessas impurezas. Considera-se ausência de nitrosaminas quando estas estiverem abaixo de 10% do limite de ingestão aceitável, porém outras abordagens podem ser justificadas, não excedendo o limite de 30%.

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.

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. Os casos abaixo ilustram alguns exemplos de alteração pós-registro necessárias conforme apontamentos da avaliação de risco:

Exemplo 1: Após a identificação e avaliação de risco de um determinado produto X a empresa realizou testes confirmatórios e verificou a presença de NDMA acima do limite aceitável. Segundo a avaliação de risco da empresa, a causa raiz da presença da nitrosamina foi a reação da nitrocelulose, componente da embalagem primária, com uma amina presente em excipientes do produto durante o processo de fechamento do blíster por aquecimento. A fim de realizar a adequação do produto, a empresa propõe como alteração pós-registro uma alteração de embalagem a fim de remover a nitrocelulose como componente do blíster. Para isso, realiza-se o protocolo de uma alteração tipo 7.c (mudança maior de composição de embalagem primária) nos termos da RDC nº 73/2016, a qual requer protocolo individual e deve aguardar manifestação da Anvisa. Considerando a correta avaliação de risco realizada, a alteração permite adequação do produto em relação a

presença de nitrosaminas em níveis aceitáveis e não são necessárias alterações pós-registro adicionais ou paralelas.

Exemplo 2: Após a detecção e confirmação da presença de mais de uma nitrosamina atingindo limites não aceitáveis, a detentora do registro, por meio de sua investigação, detecta que a causa raiz envolve o próprio IFA e provavelmente a presença de nitrosamina proveniente de solventes que foram utilizados na rota de síntese. Supondo que o fabricante de IFA aprovado optou por descontinuar o IFA em questão, a requerente decide realizar alteração do fabricante de IFA para adequar o produto. Para esse caso deve ser considerada a condição da presença ou não de CADIFA nos termos da RDC nº 359/2020. Caso o fabricante proposto já tenha CADIFA e sejam também atendidas as condições descritas na alteração 1.g - Substituição de detentor de CADIFA (implementação imediata) do Anexo I da RDC 361/2020, essa mudança poderá ser de implementação imediata. Caso tais condições não sejam atendidas ou o fabricante proposto não possua CADIFA, a mudança deve aguardar deferimento. Nesse caso, tendo em vista que a alteração do fabricante mitiga o risco de nitrosaminas que existia devido ao fabricante aprovado, a avaliação de risco prévia pode justificar a não necessidade de pós-registros paralelos adicionais, podendo ser suficiente realizar apenas a alteração do fabricante do IFA.

Exemplo 3: Conforme exemplo acima, a causa-raiz foi identificada como sendo uma nitrosamina proveniente do processo de fabricação do IFA, porém nesse caso a empresa realizará uma mudança de processo do IFA que eliminará esse risco. Para esse caso deve ser considerada a condição da presença ou não de CADIFA nos termos da RDC nº 359/2020 e se a alteração envolve impacto no perfil de impurezas. Considerando o entendimento do Perguntas e Respostas da RDC 73 Edição 4.2 (Janeiro 2021), de que a retirada de uma impureza não se enquadra em impacto no perfil de impurezas, essa pode ser considerada de implementação imediata nos termos da RDC nº 361/2020 desde que a mudança não impacte de outra forma no perfil de impurezas (ex. gerando outra impureza) ou nas especificações do IFA (ex. mudando sua forma cristalina). Por exemplo, para o caso de mudança de DIFA sem CADIFA, atendendo-se aos requisitos da norma, a alteração pode ser classificada como uma alteração do tipo 1.d (Mudança do DIFA sem CADIFA (implementação imediata)). Nesse caso, assim como no exemplo anterior, não haveria necessidade de pós-registros paralelos adicionais, sendo suficiente realizar apenas a mudança de processo do IFA.

É importante mencionar que ao término da análise de risco toda documentação deve ser arquivada na empresa e a qualquer tempo poderá ser requerida pela Agência ou verificada durante inspeções de Certificação de Boas Práticas de Fabricação (CBPF), inspeções investigativas ou auditorias de registro.

A Figura 12 apresenta síntese das etapas relacionadas a avaliação de risco e as ações necessárias decorrentes do risco identificado.

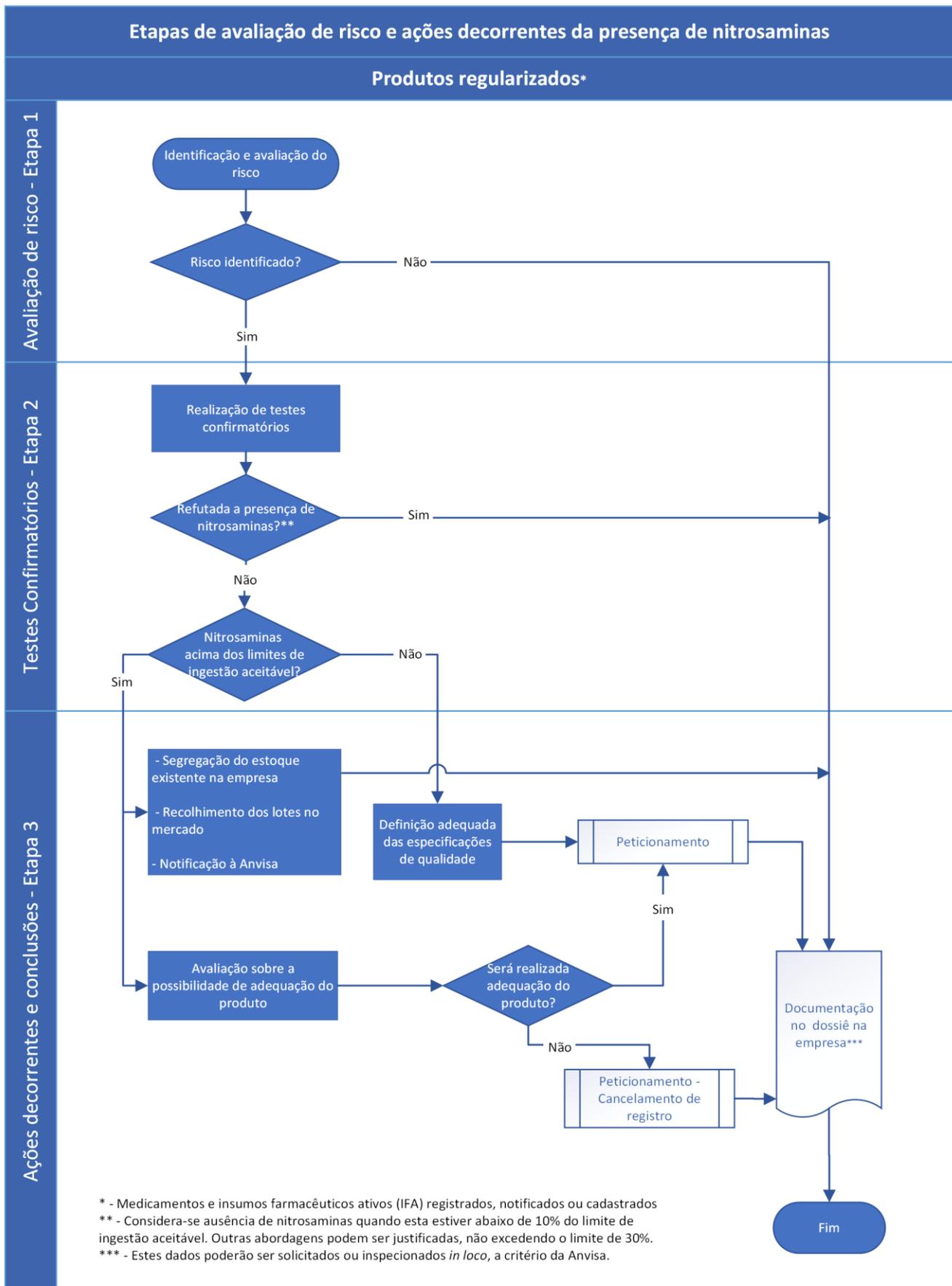


Figura 12- Etapas relacionadas a avaliação de risco e as ações necessárias decorrentes do risco identificado

6. FATORES DE PRIORIZAÇÃO PARA AVALIAÇÃO DE RISCO (ETAPA 1)

Sabe-se que a quantidade de medicamentos registrados por uma empresa pode ser expressiva e, por este motivo, sugere-se que a sequência de avaliação dos produtos seja estabelecida com base no conhecimento prévio sobre eles. As empresas podem considerar fatores como ingestão diária recomendada, duração do tratamento, indicação terapêutica, números de pacientes tratados ou outros que entendam pertinentes de acordo com o portfólio ou com a situação do produto. Por exemplo, a ausência de comercialização de determinado produto ou de determinada condição que esteja aprovada (como um fabricante de IFA alternativo que seja aprovado, mas não seja utilizado pela empresa) podem justificar que esta avaliação não seja priorizada em um primeiro momento. Porém, nos casos em que determinada condição aprovada não foi avaliada quanto ao risco de conter nitrosaminas pois não estava sendo comercializada, a análise de risco deverá ser realizada antes do reinício da comercialização.

A Tabela 2 apresenta um exemplo de priorização, utilizando os critérios “Duração do tratamento versus Dose Máxima Diária”, o qual foi proposto pelas entidades representativas do Setor Farmacêutico Brasileiro em resposta ao “Painel de Discussão sobre o controle de Nitrosaminas em medicamentos”, realizado no dia 5 de fevereiro de 2020 no Auditório da Anvisa.

Tabela 2 - Priorização por Duração de 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

Para realizar a avaliação de medicamentos com risco identificado, as empresas também podem utilizar ferramentas como a Análise de Modo de Falha e seus Efeitos (FMEA) e a Análise de Modo de Falha, Efeitos e Criticidade (FMECA), conforme descrito na diretriz do Guia ICH Q9 - *Quality Risk Management* (ICH 2005).

a) Componentes básicos

Espera-se que os fabricantes, distribuidoras e fracionadoras de IFAs e empresas fabricantes e importadoras de medicamentos trabalhem em conjunto e realizem as avaliações de risco utilizando os princípios de gerenciamento da qualidade. Ademais, o resultado do trabalho realizado deve ser baseado em conhecimento científico sempre vinculando a proteção do paciente e observando que o nível de esforço, formalidade e detalhamento da documentação seja proporcional ao nível de risco.

Além disso, os princípios descritos no Guia ICH M7(R1) - *Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk* (ICH 2017) em relação à avaliação de mutagenicidade, estratégias de controle e alterações nos processos de fabricação de substâncias ativas podem ser aplicados.

É relevante pontuar que caso o risco de formação de nitrosaminas tenha sido avaliado durante a fase de desenvolvimento dos processos de fabricação de IFA/produto acabado, estas informações poderão ser usadas para fundamentar a avaliação de que trata o presente guia.

Finalmente, ao término da Etapa 1, as empresas devem ter argumentos suficientes para responder aos seguintes questionamentos:

- Qual o risco de formação de nitrosaminas no processo sintético do IFA, levando em consideração a combinação de reagentes, solventes, catalisadores e materiais de partida usados, intermediários formados, impurezas e degradantes?
- Qual o risco de contaminação por nitrosaminas (por exemplo, de materiais recuperados, como solventes, reagentes e catalisadores, equipamentos, materiais de partida ou intermediários)?
- Qual o risco de formação de nitrosaminas durante a fabricação do produto acabado ou durante o armazenamento ao longo da sua vida útil (por exemplo, possível degradação ou interação com excipientes e material de embalagem)?

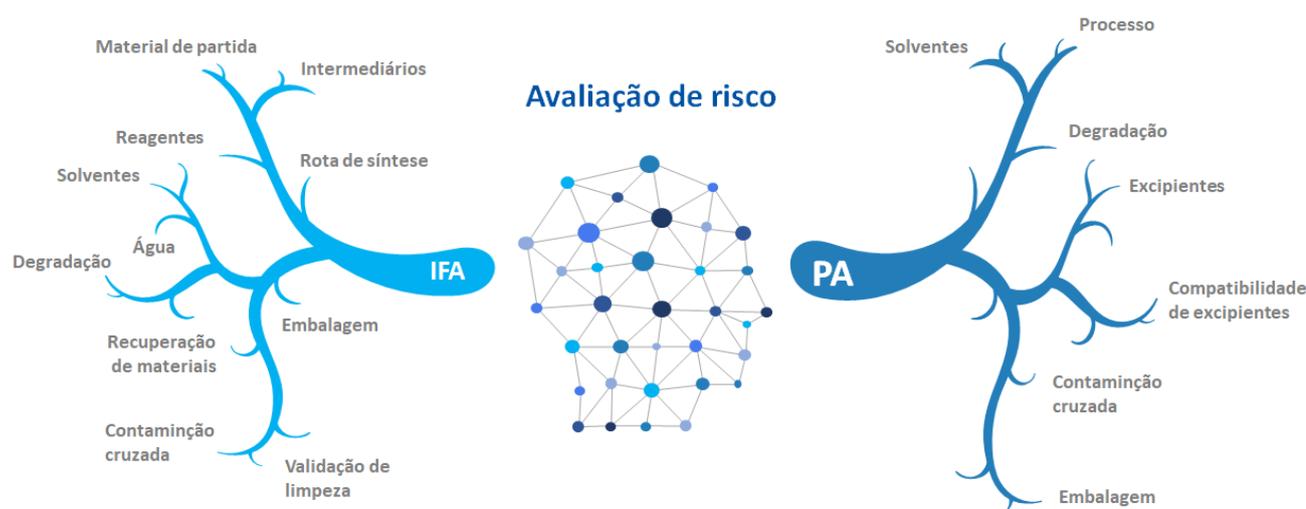


Figura 13 - Avaliação de Risco (adaptado de imagem cedida pelo autor e apresentada no curso IFA – P&D e Produção de Insumos Farmacêuticos Ativos (Silva Junior, P.E., 2021))

b) Avaliação de purga

Caso seja verificada a presença de risco potencial de formação de nitrosaminas no processo sintético do IFA, levando em consideração os reagentes, solventes, catalisadores, materiais de partida, intermediários formados e outras impurezas, pode ser realizada uma avaliação pormenorizada de todo o processo de obtenção do fármaco no que tange às possibilidades de eliminação/purga da(s) nitrosamina(s) potencialmente presente(s).

Nessa análise, caso o domínio do processo de obtenção do IFA, e seus parâmetros associados, seja tal que permita determinar que o risco da presença da(s) nitrosamina(s) acima do(s) limite(s) máximo(s) permitido(s) seja negligenciável, a estratégia de controle poderá ser baseada apenas no controle do processo, não sendo necessários testes analíticos. Essa estratégia é análoga a opção 4 do Guia ICH M7.

Para que tal estratégia de controle seja aceitável, é necessária uma análise de risco formal, considerando as propriedades físico-químicas da(s) nitrosamina(s) em questão e os fatores do processo de obtenção do IFA que impactam no destino e na eliminação/purga da(s) nitrosaminas, incluindo reatividade química, solubilidade, volatilidade, ionizabilidade e processos especificamente desenvolvidos para remoção da(s) nitrosamina(s) em questão. O resultado da análise de risco deve estimar um fator de eliminação/purga da(s) nitrosaminas contaminante(s) em questão. Estudos de contaminação/eliminação poderão ser empregados como forma de evidência da capacidade do processo em eliminar/purgar a(s) nitrosamina(s) em questão. 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.

Algumas publicações científicas estão disponíveis e podem ser consultadas para orientar quanto às melhores práticas de cálculo do fator de purga, estabelecendo requisitos necessários para justificar a eliminação da impureza, inclusive para casos envolvendo nitrosaminas, e podem ser utilizadas como referência nessa etapa, por exemplo: Teasdale et al. 2010, Teasdale et al. 2013, Barber et al. 2017, Burns et al. 2019, Burns et al. 2020.

7. TESTES CONFIRMATÓRIOS (ETAPA 2)

a) Método analítico

Assim como para outras impurezas, a avaliação laboratorial da presença de nitrosaminas requer a aplicação de procedimentos analíticos sensíveis e seletivos, sendo muitas vezes necessária a associação de diferentes técnicas analíticas como de separação cromatográfica associadas à identificação e quantificação por espectrometria de massas, por exemplo.

Embora a Farmacopeia Brasileira ainda não disponha de método de análise de nitrosaminas, vários procedimentos têm sido desenvolvidos e tornados públicos inclusive por autoridades regulatórias como a Agência Europeia de Medicamentos – EMA (EDQM 2020), Agência Americana de Medicamentos e Alimentos - FDA (FDA 2019) e Agência Canadense de Medicamentos - Health Canada (Health Canada 2019).

Há que se considerar também as farmacopeias estrangeiras admitidas no Brasil, conforme a Resolução RDC nº 511, de 27 de maio de 2021 ou suas atualizações. Estes métodos, caso disponíveis, podem ser utilizados pelas empresas como base para a análise de seus produtos.

Considerando os aspectos relacionados à formação destes contaminantes e o catálogo de produtos da empresa, uma estratégia a se considerar é o desenvolvimento pela empresa de método geral e abrangente que possa ser adequado tanto para análise de insumos ativos, excipientes, como dos produtos acabados em seus diferentes estágios (produção, estudos de estabilidade e outros). Porém, tendo em vista a especificidade de cada produto e os diferentes tipos de matriz, um único método para todos os casos pode não ser possível.

Ressalta-se que, independentemente da estratégia adotada e das adequações realizadas, o método de uso deve atender aos critérios estabelecidos na legislação vigente, a Resolução RDC nº 166, de 24 de julho de 2017, que dispõe sobre validação de métodos analíticos, ou suas atualizações, ou o Guia ICH Q2(R1) Validação de Procedimentos Analíticos. Neste sentido, destaca-se, mas não se restringe, a necessidade de se observar os limites de detecção ou quantificação e de seletividade, principalmente quando este for aplicável a diferentes matrizes de análise. Importante destacar que a validação analítica deve ser planejada considerando os dados disponíveis para o produto. Com isso se poderá concluir pela possibilidade de utilização de validação parcial, ensaio limite, ou mesmo a necessidade de execução de testes adicionais, entre outras situações.

Há relatos de formação de nitrosaminas inclusive nas etapas de preparação de amostras bem como de interferência na análise por solventes comumente utilizados na rotina laboratorial. Portanto, a preparação adequada da amostra é uma etapa crítica na avaliação destes analitos, seja em razão da perda de impurezas ou da geração dessas durante essa etapa (EMA 2020, King et al. 2020).

b) Lotes a serem testados

A etapa em que a nitrosamina será testada (intermediário, IFA ou produto acabado) depende da origem da impureza. Por exemplo, quando for necessário o teste confirmatório para impurezas provenientes do processo de fabricação do IFA, estas podem ser testadas no IFA ou em um intermediário do processo, caso sua origem seja anterior a esse intermediário. Já se a impureza for de degradação, recomenda-se que os testes sejam realizados em amostras que representem o produto durante sua validade, por exemplo, lotes submetidos aos estudos de estabilidade, amostras próximas ao vencimento, dentre outras. Nesse caso, o teste se faz aplicável tanto no IFA como no produto acabado.

Os ensaios de quantificação dos lotes de IFA feitos pelo fabricante do IFA poderão ser utilizados pelo detentor do registro do medicamento desde que haja uma avaliação crítica dos resultados, e que o fabricante tenha sido qualificado conforme legislação de Boas Práticas de Fabricação vigente. No entanto, isso não exime a necessidade de avaliação do risco no produto acabado, visto que a formação do contaminante pode ocorrer em diversas etapas do processo de produção.

Em relação ao número de lotes que serão testados, este deve ser definido pela avaliação de risco da empresa, conforme recomendações abaixo:

- Para medicamentos registrados, devem ser apropriadamente amostrados e testados, no mínimo, 10% dos lotes anuais, ou 3 lotes por ano, o que for maior.
 - Se menos de 3 lotes forem produzidos no ano, todos os lotes fabricados devem ser testados.
 - Se mais de um fabricante, processo de fabricação e/ou fontes de materiais relacionados ao risco forem utilizados, mais lotes devem ser testados a fim de cobrir todos os fatores de risco.
 - Quando a(s) nitrosamina(s) for(em) impureza(s) de degradação, minimamente 3 lotes representativos do produto durante todo seu prazo de validade devem ser testados.
 - Outras abordagens tecnicamente justificadas poderão ser aceitas.
- Para novo registro ou petição pós-registro, o número de lotes testados deve ser condizente com a quantidade requerida pela RDC vigente.
 - Além disso, devem ser observados também o quantitativo de lotes requerido no parágrafo anterior. Por exemplo, para petições que solicitam menos de três lotes, a implementação será condicionada ao compromisso da empresa em testar os lotes de implementação também posteriormente, a fim de completar os 3 lotes necessários. Esses dados devem estar disponíveis para apresentação à Anvisa, quando solicitado ou durante inspeção.
- Quando o fabricante do medicamento necessitar realizar a análise do IFA, o número de lotes deve ser definido pela avaliação de risco da empresa.

8. ESTRATÉGIA DE CÁLCULO PARA A ATRIBUIÇÃO DE LIMITES DE ACEITAÇÃO

Os compostos *N*-nitrosos são agentes genotóxicos carcinogênicos do grupo denominado “Grupo de Preocupação” ou *Cohort of Concern*. Trata-se de impurezas mais potentes que a maioria dos demais compostos mutagênicos, portanto, o uso do limite baseado no conceito por “Limiar de Preocupação Toxicológica” ou TTC (*Threshold of Toxicological Concern*) não é aplicável.

Conforme descrito no Guia ICH M7(R1), para tais compostos espera-se que a ingestão aceitável seja significativamente menor do que para as demais impurezas potencialmente mutagênicas, de forma que o

estabelecimento do limite deve idealmente ser feito caso-a-caso, utilizando, por exemplo, dados de carcinogenicidade de compostos estruturalmente semelhantes.

As abordagens de avaliação do risco descritas no presente Guia se aplicam para todas as vias de administração, e correções de limites para diferentes vias de administração não são aplicáveis. Os casos em que dados científicos justificarem particularidades de uma via de administração específica devem ser avaliados individualmente.

Para produtos destinados ao câncer avançado apenas conforme definido no escopo da diretriz ICH S9, as impurezas de N-nitrosamina devem ser controladas de acordo com as diretrizes ICH Q3A (R2) e ICH Q3B (R2). Se a própria substância ativa for mutagênica ou clastogênica em concentrações terapêuticas, as impurezas de N-nitrosamina devem ser controladas em limites para impurezas não mutagênicas de acordo com ICH M7 (R1).

a) Limites para nitrosamina única

A determinação dos limites aceitáveis ou AI (*Acceptable Intake*) das nitrosaminas listadas nesse guia foi embasada na orientação de cálculo específico para cada composto disposta no Guia ICH M7(R1) e harmonizada com os limites já aceitos por outras autoridades regulatórias (EMA 2020b, EMA 2022, FDA 2020), os quais, por sua vez foram obtidos a partir de estudos de carcinogenicidade em animais ou de racional subsidiado por similaridade estrutural. Os limites para algumas nitrosaminas conhecidas são descritos na tabela 3.

Tabela 3 - Limites de aceitação para nitrosaminas

Nitrosamina (sigla)	Nomenclatura	CAS	Ingestão aceitável (ng/dia)
NDMA ¹	dimetilnitrosamina	62-75-9	96,0
NDEA ¹	dietilnitrosamina	55-18-5	26,5
EIPNA ²	etilisopropilnitrosamina	16339-04-1	26,5
DIPNA ²	di-isopropilnitrosamina	601-77-4	26,5
NMBA ²	carboxipropilmetilnitrosamina	61445-55-4	96,0
MeNP ²	metilnitrosopiperazina	16339-07-4	26,5
NDBA ²	dibutilnitrosamina	924-16-3	26,5
NMPA ¹	fenilmetilnitrosamina	614-00-6	34,3
NMOR ³	nitrosomorfolina	59-89-2	127,0
NNV ⁴	nitrosovareniclina	-	37,0
NDPA ²	dipropilnitrosamina	621-64-7	26,5

¹ As ingestões aceitáveis listadas para as nitrosaminas NDMA, NDEA e NMPA foram calculadas a partir do TD₅₀ obtido a partir de média harmônica dos estudos de carcinogenicidade listado na base de dados *Carcinogenicity Potency Database* (CPDB) disponível em <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>

² Para as demais nitrosaminas as ingestões aceitáveis foram estabelecidas com base em estratégia de relação estrutura-atividade (Q)SAR com NMDA ou NDEA.

³ Limite baseado no valor de TD₅₀ mais sensível derivado do estudo de TD₅₀ mais robusto disponível na base de dados CPDB

⁴ Limite derivado utilizando SAR e abordagem *read-across* tendo o valor de TD₅₀ de N-nitroso-1,2,3,6-tetrahydropyridine como ponto de partida

Esses valores de ingestão aceitável se aplicam para produto acabado contendo apenas uma nitrosamina. O limite determinado para um produto específico em ppm pode ser calculado por meio da razão da ingestão aceitável (em ng) pela Dose Máxima Diária (DMD) do produto (em mg). Por exemplo, considerando a dose máxima diária de metformina de 2.550 mg e o limite de 96 ng para a NDMA, temos 0,038 ppm (96/2.550) como limite diário aceitável.

Esse cálculo também pode considerar o fator referente à duração do tratamento, quando o tratamento durar menos de 10 anos, conforme equação apresentada no item “*Abordagem Less than Lifetime*”.

Os valores de ingestão aceitável previstos nesse guia, especialmente os calculados baseados em relação estrutura-atividade, são limites interinos, considerando as melhores evidências disponíveis no momento da publicação desse guia. Esses limites podem ser alterados no caso de disponibilidade de novas evidências científicas para esses compostos.

A empresa deverá comunicar a Anvisa e apresentar justificativa técnica nos casos de definição de limites superiores aos apresentados na tabela 3.

b) Mais de uma nitrosamina

Considerando o caso da detecção de mais de uma nitrosamina no mesmo produto, duas alternativas podem ser utilizadas para definir o limite da soma das nitrosaminas:

Opção 1: a soma de todas as nitrosaminas presentes no produto não deve ultrapassar o limite de aceitação referente à nitrosamina mais potente dentre as presentes.

Opção 2: os limites individuais de cada nitrosamina são ajustados para assegurar que o risco total da exposição a elas não ultrapasse o risco negligenciável.

A opção 2 considera uma abordagem baseada em risco para aceitar a presença de múltiplas nitrosaminas, desde que seja demonstrado que o risco final não exceda a razão de 1:100.000, definida no Guia ICH M7(R1) como risco aceitável de câncer. Assim, caso mais de uma nitrosamina precise ser controlada na especificação do IFA ou do produto acabado, deve-se estabelecer um limite para a soma dessas nitrosaminas, o qual deve assegurar a manutenção do risco negligenciável. Um exemplo de cálculo considerando a opção 2 é descrito na Figura 14.

Essas abordagens são apenas aplicáveis caso mais de uma nitrosamina esteja de fato presente e necessite ser controlada na especificação do IFA ou produto acabado. Caso exista a possibilidade teórica da presença de nitrosaminas, mas que tenham sua ausência demonstrada e que não necessitem ser controladas na especificação, o limite para nitrosaminas totais não deve considerar tais impurezas.

Exemplo:

Para um IFA que contém apenas NDEA, o limite aceitável de 26,5 ng/dia corresponde ao risco de 1:100.000. Por outro lado, caso ele contenha apenas NDMA, o limite aceitável de 96 ng/dia corresponde a esse mesmo risco de 1:100.000.

Em outro cenário, para um IFA que contenha ambas as nitrosaminas, caso fossem mantidos os limites originais, o risco corresponderia à soma de ambas, portanto o dobro do risco inicial - maior que o risco negligenciável. Assim, para que o risco seja mantido em 1:100.000, os limites das nitrosaminas devem ser reduzidos em proporções que assegurem um risco final total negligenciável, conforme descrito abaixo:

Caso o limite de cada uma seja reduzido para 50% do valor original (13,25 ng/dia para NDEA e 48 ng/dia para NDMA), cada uma representará 50% do risco inicial, e a soma de ambas equivalerá ao risco negligenciável (1:100.000). Alternativamente, proporções variáveis entre os limites individuais estabelecidos para cada nitrosamina podem ser empregadas, por exemplo, 30% do limite de NDEA (7,95ng/dia) e 70% do limite estabelecido para NDMA (67,2 ng/dia), conforme representado na Figura 14.

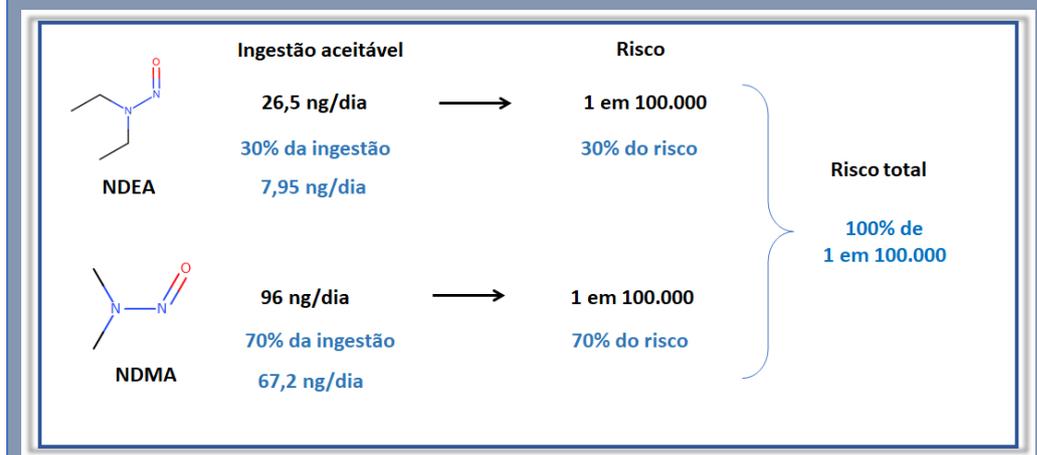


Figura 14 - Exemplo de estabelecimento de limites para mais de uma nitrosamina

c) Nitrosaminas novas

Durante a avaliação de risco ainda há possibilidade de serem encontradas outras nitrosaminas, potenciais ou reais, além das listadas na Tabela 3. Frente à ausência de limites específicos, recomenda-se uma abordagem semelhante à realizada previamente para as nitrosaminas com limites listados nesse guia, com a determinação de limite específico baseado em estudos de carcinogenicidade, quando disponíveis. Nos casos em que estudos de carcinogenicidade não estejam disponíveis, recomenda-se a derivação de um limite a partir da comparação da relação estrutura-atividade (*Structure Activity Relationship* - SAR) com nitrosaminas conhecidas ou a aplicação de um TTC específico para a classe das nitrosaminas.

Para a determinação de limite baseado na TD₅₀ de estudos de carcinogenicidade, esses devem atender a critérios de qualidade e robustez como descrito no Guia ICH M7(R1), por exemplo, estudos com múltiplas doses (pelo menos 3 grupos) e 50 animais por dose por sexo. Os estudos utilizados para o fim de determinação do limite serão avaliados caso a caso, ainda que a média harmônica da TD₅₀ esteja apresentada na *Carcinogenicity Potency Database* (CPDB).

Na ausência de estudos robustos que possam subsidiar esse limite, a abordagem SAR é recomendada, desde que seja utilizada como comparador a TD₅₀ de uma nitrosamina cujo limite tenha sido derivado a partir de estudo de carcinogenicidade robusto com a estrutura mais similar ao composto em análise. O uso da abordagem SAR deve ser cientificamente justificado e adequadamente documentado.

Por fim, como alternativa à derivação de um limite baseado em SAR, o TTC específico para a classe das nitrosaminas pode ser aplicado. Com base no conhecimento científico e nos dados disponíveis até o momento, o TTC para a classe das nitrosaminas corresponde a 18 ng/dia. Esse valor corresponde ao 5º percentil dos valores de TD₅₀ para 45 nitrosaminas disponíveis na base de dados sobre carcinogenicidade LCDB (do inglês: *Lhasa Limited Carcinogenicity Database*) (LhasaLimited 2020), cuja metodologia para derivação da TD₅₀ foi publicada por Thresher e colaboradores (2019).

Apesar de haver dados de carcinogenicidade para um número maior de nitrosaminas na base de dados *Carcinogenicity Potency Database* - CPDB, de onde se extraíram os dados utilizados para a determinação do TTC geral para carcinógenos genotóxicos (1,5 µg/dia), os valores de TD₅₀ da LCDB foram calculados selecionando apenas estudos que atendiam critérios adicionais de qualidade. Dentre esses critérios estão a remoção de dados para os quais não existe dose-resposta ou as curvas dose-resposta não são lineares, exclusão de estudos com um único grupo e de valores de TD₅₀ acima de 1.000.000 mg/kg (Thresher et al. 2019).

Mais recentemente, Thomas et al. (2021) corroboraram a aplicabilidade de uso da base de dados LCBD considerando apenas estudos mais robustos e da derivação do 5º percentil de modo estatisticamente mais conservador. Os autores discutem que o limite de 18 ng/dia permite considerar um limite de confiança que estime as incertezas e as diferentes potências da classe das nitrosaminas.

As opções para derivação de limites para novas nitrosaminas são ilustradas na Figura 15.

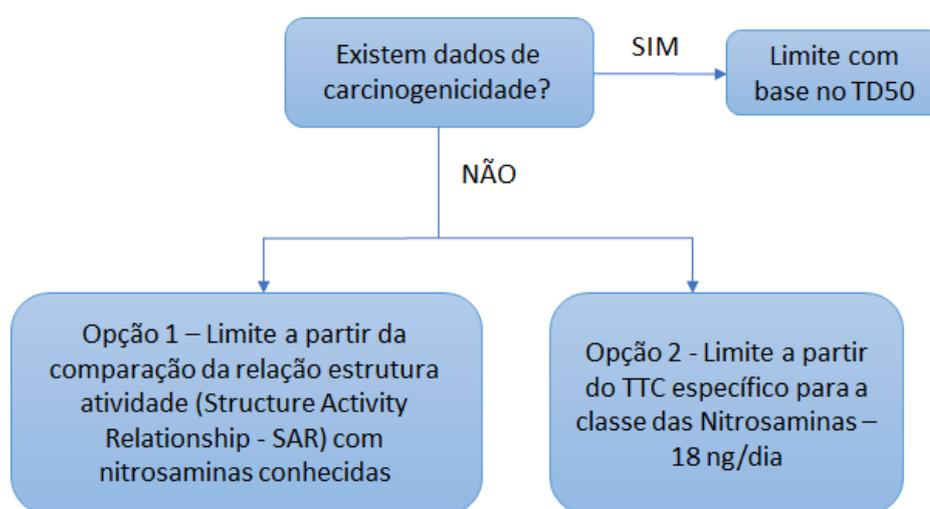


Figura 15- Árvore decisória para estabelecimento de limites para novas nitrosaminas

A empresa deverá comunicar a Anvisa nos casos de identificação de nova nitrosamina (não contemplada na tabela 3) e apresentar justificativa técnica para definição do seu limite.

d) Abordagem *Less Than Lifetime*

O termo “*Less Than Lifetime*” é traduzido livremente para “menos que a vida toda”. Essa abordagem corresponde à possibilidade de se estabelecer limites maiores para impurezas potencialmente mutagênicas quando a duração do tratamento se der por períodos menores do que uma vida toda.

Isso significa que os limites variam conforme a duração do tratamento, baseado em um conceito fundamental da toxicologia estabelecido pela Lei de Haber:

$$\text{Concentração} \times \text{Tempo} = \text{Constante}$$

Portanto, o efeito carcinogênico é baseado tanto na dose como na duração da exposição. Esse conceito é estabelecido na Nota 6 do ICH M7 (R1) (ICH 2017). Com base nesse conceito, foram estabelecidos no ICH M7 (R1) (ICH 2017) valores de TTC que variam conforme a duração do tratamento, sendo que aos limites maiores do que os limites definidos para uma vida toda (*lifetime* ou acima de 10 anos) foram ainda incorporados fatores de segurança para mitigar o risco de efeitos agudos que poderiam acontecer, como uma possível saturação das enzimas de reparo do DNA.

Os fatores estão apresentados na Tabela 4 e o racional para sua derivação ilustrado na Figura 16.

Tabela 4 - Fatores para a duração do tratamento no cálculo do limite aceitável (Bercu et al, 2021).

Duração do tratamento	< 1 mês	1 a 12 meses	1 a 10 anos	> 10 anos
Fator a ser aplicado no cálculo do limite	80	13,3	6,7	1,0

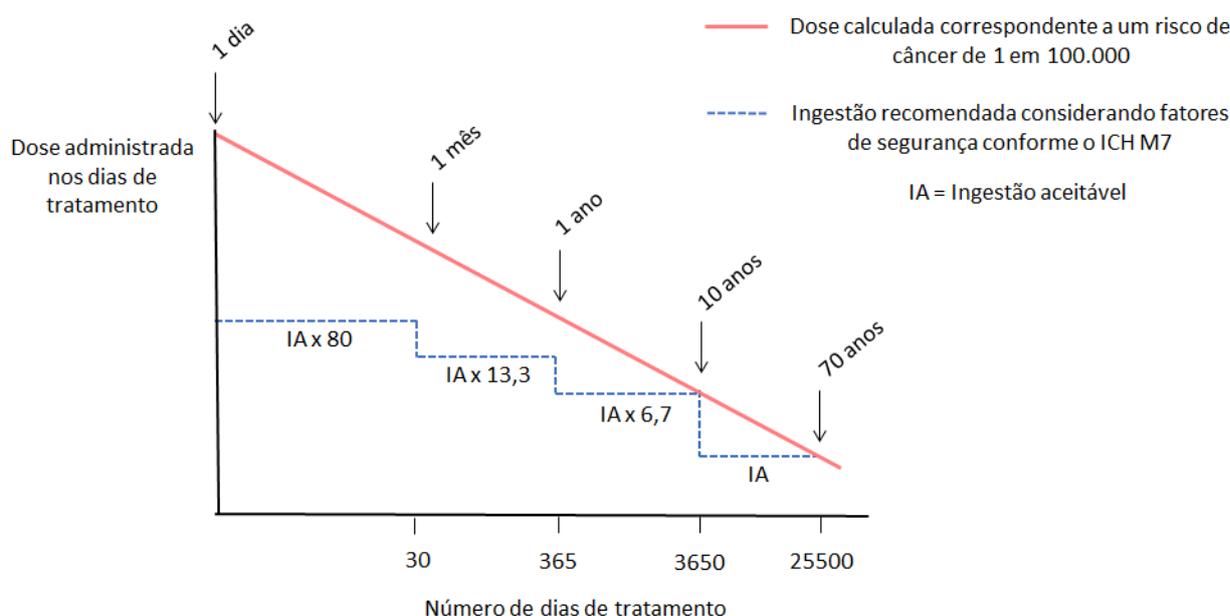


Figura 16- Correlação entre a duração da exposição e a ingestão diária aceitável para impurezas mutagênicas e nitrosaminas. Adaptado de Guia ICH M7(R1)

No caso das nitrosaminas, o TTC de 1,5 µg/dia não é aplicável devido à sua maior potência, enquadrando-as no grupo “cohort-of-concern”. Porém, o Guia ICH M7(R1) não expressa que seus conceitos, como a abordagem LTL, não sejam aplicadas para os compostos enquadrados nesse grupo.

Considerando os fatores propostos descritos na Tabela 4, os limites de aceitação para nitrosaminas resultariam em limites superiores ao aplicado para a exposição por toda a vida listada na Tabela 3. Um estudo de caso para a NDEA foi recentemente publicado sugerindo sua aplicabilidade (Bercu et al, 2021), considerando que as nitrosaminas possuem toxicodinâmica semelhante a outras impurezas potencialmente mutagênicas, apesar de serem mais potentes.

A aplicabilidade do conceito de LTL para nitrosaminas tem sido discutida internacionalmente, no entanto, ainda não há consenso sobre a segurança de sua utilização como ponto de partida para o cálculo de limites aceitáveis. Desta forma, métodos analíticos devem ser desenvolvidos e validados para que sua sensibilidade (limite de quantificação) seja adequada para as concentrações apresentadas nas situações (a), (b) e (c) do item 8 deste guia e a ausência de nitrosaminas durante os testes confirmatórios, discutida no item 5 desse guia, não deve ser baseada nos limites obtidos através da abordagem LTL. Dada a falta de evidência científica robusta nesse momento, questiona-se a possibilidade de exceder os mecanismos de reparo do DNA,

especialmente considerando outras possíveis fontes de nitrosaminas, como polifarmácia, exposição alimentar e ambiental, aumentando consideravelmente o risco de carcinogênese ao aplicar esses fatores para as nitrosaminas (EMA, 2020b).

Dessa forma, essa Anvisa recomenda que a abordagem LTL não seja aplicada como ponto de partida para o estabelecimento do limite de segurança de nitrosaminas. A Anvisa reconhece que, quando o limite de segurança para a toda a vida for inferior aos valores de nitrosamina única ou mais de uma presente no produto, considerando impossibilidade técnica de adequação do produto ao limite para uma vida toda, a abordagem LTL possa ter sua utilização justificada, acompanhada de racional técnico-científico, considerando, por exemplo, indicação, posologia ou risco de desabastecimento, a ser avaliado caso-a-caso pela Anvisa.

9. GLOSSÁRIO

Análise de risco: processo que consta de três componentes, sendo eles (1) avaliação de risco, (2) gerenciamento de risco e (3) comunicação de risco.

Abordagem *Less than Lifetime*: avaliações estabelecidas para risco de câncer baseadas nas exposições quando essas são menores que a vida toda (70 anos).

***Cohort-of-concern*:** grupo de agentes cancerígenos mutagênicos de alta potência que compreende compostos semelhantes a aflatoxina, N-nitroso- e alquil-azóxicos.

Ingestão aceitável: um nível de ingestão que apresenta risco desprezível de câncer, ou para indicações sérias/ com risco de vida, em que o risco e o benefício são adequadamente equilibrados.

Limiar de preocupação toxicológica, do inglês *Threshold of Toxicological Concern – TTC*: conceito desenvolvido para definir uma ingestão aceitável para qualquer substância química não estudada que represente um risco negligenciável de carcinogenicidade ou outros efeitos tóxicos.

Limite aceitável: concentração máxima aceitável de uma impureza em uma substância medicamentosa ou medicamento, derivada a partir da ingestão aceitável e da dose diária do medicamento.

Material: termo usado para denotar matéria-prima (materiais de partida, reagentes, solventes), materiais auxiliares, intermediários, insumos farmacêuticos ativos e materiais de embalagem e rotulagem.

Produtos regularizados/produtos: medicamentos e insumos farmacêuticos ativos (IFA) registrados, notificados ou cadastrados.

(Q)SAR e SAR: refere-se à relação entre a (sub)estrutura molecular de um composto e sua atividade mutagênica usando Relações Estrutura-Atividade (Quantitativas) derivadas de dados experimentais.

Risco negligenciável: risco correspondente a uma incidência de câncer de 1 em 100.000.

TD₅₀: Taxa de dose crônica em mg/kg de peso corporal/dia, que causaria tumores em metade dos animais no final de uma vida útil padrão para a espécie, levando em consideração a frequência desse tipo de tumor nos animais de controle.

10. REFERÊNCIAS

Barber, C., et al. (2017). "A consortium-driven framework to guide the implementation of ICH M7 Option 4 control strategies." *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **90**: 22-28.

Bercu, J., et al. (2021). "Use of less-than-lifetime (LTL) durational limits for nitrosamines: Case study of N-Nitrosodiethylamine (NDEA)" Regulatory Toxicology and Pharmacology **123**: 104926.

Burns, M. J., et al. (2019). "New Semi-Automated Computer-Based System for Assessing the Purge of Mutagenic Impurities." Organic Process Research & Development **23**(11): 2470-2481.

Burns, M. J., et al. (2020). "Controlling a Cohort: Use of Mirabilis-Based Purge Calculations to Understand Nitrosamine-Related Risk and Control Strategy Options." Organic Process Research & Development **24**(8): 1531-1535.

Carlson, E. S., et al. (2017). "A General Method for Detecting Nitrosamide Formation in the In Vitro Metabolism of Nitrosamines by Cytochrome P450s." Journal of visualized experiments : JoVE(127): 56312.

EDQM (2020). "Ad-hoc projects of the OMCL Network." Retrieved 04 de fevereiro de 2021, 2021, from <https://www.edqm.eu/en/ad-hoc-projects-omcl-network>.

EMA (2020)a. Lessons learnt from presence of N-nitrosamine impurities in sartan medicines - Overview and recommendations. EMA/526934/2019, European Medicines Agency.

EMA (2020)b. Nitrosamine impurities in human medicinal products Procedure under Article 5(3) of Regulation EC (No) 726/2004. Procedure number: EMEA/H/A-5(3)/1490, European Medicines Agency.

EMA (2022). "Questions and answers for marketing authorisation holders/applicants on the CHMP Opinion for the Article 5(3) of Regulation (EC) No 726/2004 referral on nitrosamine impurities in human medicinal products" EMA/409815/2020 Rev.8 from https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/nitrosamines-emea-h-a53-1490-questions-answers-marketing-authorisation-holders/applicants-chmp-opinion-article-53-regulation-ec-no-726/2004-referral-nitrosamine-impurities-human-medicinal-products_en.pdf.

Ender, F., et al. (1964). "Isolation and identification of a hepatotoxic factor in herring meal produced from sodium nitrite preserved herring." Naturwissenschaften **51**(24): 637-638.

FDA (2019). "FDA Updates and Press Announcements on Angiotensin II Receptor Blocker (ARB) Recalls (Valsartan, Losartan, and Irbesartan)." Retrieved 04 de fevereiro de 2021, 2021, from <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-updates-and-press-announcements-angiotensin-ii-receptor-blocker-arb-recalls-valsartan-losartan#5fdb8ed25acb8>.

FDA (2020)a. "Information about Nitrosamine Impurities in Medications." 2020, from <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/information-about-nitrosamine-impurities-medications>.

FDA (2020)b. "FDA Requests Removal of All Ranitidine Products (Zantac) from the Market." FDA News Release. from <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-requests-removal-all-ranitidine-products-zantac-market>.

Fong, Y. Y. and W. C. Chan (1973). "Dimethylnitrosamine in chinese marine salt fish." Food and Cosmetics Toxicology **11**(4): 841-845.

Health Canada (2019). "Impurities found in certain angiotensin II receptor blocker (ARB) products, also known as sartans." Retrieved 04 de fevereiro de 2021, 2021, from <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/drugs-health-products/compliance-enforcement/information-health-product/drugs/angiotensin-receptor-blocker.html#a4>.

ICH (2005). Q9 - Quality Risk Management. INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE.

ICH (2017). M7(R1) - Assessment and control of DNA reactive (mutagenic) impurities in pharmaceuticals to limit potential carcinogenic risk, INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE.

King, F. J., et al. (2020). "Ranitidine—Investigations into the Root Cause for the Presence of N-Nitroso-N,N-dimethylamine in Ranitidine Hydrochloride Drug Substances and Associated Drug Products." Organic Process Research & Development **24**(12): 2915-2926.

Klein, D. R. (2017). Preparation and Reactions of Amides Organic Chemistry: 933.

LhasaLimited (2020). "Lhasa Carcinogenicity Database." from <https://carcdb.lhasalimited.org/carcdb-frontend/#>.

López-Rodríguez, R., et al. (2020). "Pathways for N-Nitroso Compound Formation: Secondary Amines and Beyond." Organic Process Research & Development **24**(9): 1558-1585.

Magee, P. N. and J. M. Barnes (1956). "The production of malignant primary hepatic tumours in the rat by feeding dimethylnitrosamine." Br J Cancer **10**(1): 114-122.

Rath, S. and L. S. Canaes (2009). "Contaminação de produtos de higiene e cosméticos por n-nitrosaminas." Química Nova **32**: 2159-2168.

Reusch, W. (1999). "Virtual Textbook of Organic Chemistry." Retrieved 23/09/2020 2020 from <https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/VirtTxtJml/amine2.htm#amin7>.

Roberts, J. D. and M. C. Caserio (1977). Organonitrogen compounds; I. Amines. Basic Principles of Organic Chemistry. Menlo Park, CA, W. A. Benjamin, Inc. : 1095-1166.

Teasdale, A., et al. (2013). "Risk Assessment of Genotoxic Impurities in New Chemical Entities: Strategies To Demonstrate Control." Organic Process Research & Development **17**(2): 221-230.

Teasdale, A., et al. (2010). "A Tool for the Semiquantitative Assessment of Potentially Genotoxic Impurity (PGI) Carryover into API Using Physicochemical Parameters and Process Conditions." Organic Process Research & Development **14**(4): 943-945.

Thomas, R., et al. (2021). "Utilisation of parametric methods to improve percentile-based estimates for the carcinogenic potency of nitrosamines." Regulatory Toxicology and Pharmacology: 104875.

Thresher, A., et al. (2019). "Generation of TD(50) values for carcinogenicity study data." Toxicol Res (Camb) **8**(5): 696-703.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa

SIA Trecho 5, Área Especial 57, Lote 200

CEP: 71205-050

Brasília – DF

www.anvisa.gov.br

www.twitter.com/anvisa_oficial

Anvisa Atende: 0800-642-9782

ouvidoria@anvisa.gov.br