

**CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS  
(CEFET-MG)**

**Gabriel Marani Costa Alves**

**DESENVOLVIMENTO DE PLANILHA EM EXCEL PARA AVALIAÇÃO DE RISCO  
EM RELAÇÃO A IMPUREZAS GENOTÓXICAS E FORMAÇÃO DE  
NITROSAMINAS NA ROTA SINTÉTICA DO INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO**

**Belo Horizonte (MG)**

**2022**

**Gabriel Marani Costa Alves**

**DESENVOLVIMENTO DE PLANILHA EM EXCEL PARA AVALIAÇÃO DE RISCO  
EM RELAÇÃO A IMPUREZAS GENOTÓXICAS E FORMAÇÃO DE  
NITROSAMINAS NA ROTA SINTÉTICA DO INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO**

**Trabalho de conclusão de curso  
apresentado como requisito parcial para  
a obtenção do título de Bacharel em  
Química Tecnológica.**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Ívina Paula  
de Souza**

**Coorientadora: M.a. Júlia Cristina  
Soares**

**CEFET-MG**

**Belo Horizonte (MG)**

**2022**

**Gabriel Marani Costa Alves**

**DESENVOLVIMENTO DE PLANILHA EM EXCEL PARA AVALIAÇÃO DE RISCO  
EM RELAÇÃO A IMPUREZAS GENOTÓXICAS E FORMAÇÃO DE  
NITROSAMINAS NA ROTA SINTÉTICA DO INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO**

**Trabalho de conclusão de curso do Bacharelado em  
Química Tecnológica  
CEFET-MG**

**Belo Horizonte, 03 de fevereiro de 2022.**

**Prof<sup>a</sup>. Dra. Ívina Paula de Souza  
(Orientadora – CEFET-MG)**

**M.a. Júlia Cristina Soares  
(Coorientadora – Laboratório Globo S.A)**

**Prof. Dr. Cleverson Fernando Garcia  
(Avaliador – CEFET-MG)**

**Paloma de Souza Alves  
(Avaliadora – Laboratório Globo S.A)**

## AGRADECIMENTOS

A essa conquista agradeço inicialmente a Deus pelo dom da vida que me foi dado e pela família maravilhosa na qual fui recebido.

Em segundo lugar, mas não menos importantes, agradeço a minha mãe, Adriana, e meu pai, José, que foram meus primeiros professores, e me acompanharam em cada passo do meu desenvolvimento, desde as primeiras palavras até minhas conquistas acadêmicas mais recentes. Meu pai não está mais presente neste nosso plano, e não mais me acompanhará fisicamente, mas tenho certeza que de onde estiver está a me observar e guardar. Obrigado por todo amor e todo o carinho. Obrigado por todas as noites acordados cuidando de mim quando eu adoecia. Obrigado por cada refeição. Obrigado pela diversão, pois momentos felizes jamais me faltaram. Obrigado pelos estudos que me proporcionaram. A vocês atribuo meu caráter, integridade e todas as características que julgo valiosas em um ser humano.

Agradeço a meu irmão mais novo Miguel, que mesmo com todos os desentendimentos, sempre me apoiou e me incentivou a ser um exemplo melhor e a ter coragem para enfrentar os desafios.

Agradeço as minhas muitas segundas mães (Teófina, Vó Silvia, Tia Darci, Tia Soraia e Nana) que sempre me deram amor e apoiaram quando minha mãe Adriana não podia estar presente.

Agradeço aos meus amigos Felipe e Tamirys, que sempre estiveram a meu lado me apoiando em todos os momentos felizes, e outros nem tão felizes. Ao Felipe agradeço também pelo incentivo na busca por oportunidades de expandir meus conhecimentos práticos e de me aprimorar como profissional.

Agradeço a meus amigos de faculdade (Gustavo, Clara, Vitória, Sthefanie, Amorim, Ana e todos os outros) que viveram comigo momentos de dificuldade, trabalhos em grupo, cada aprendizado novo e muitos momentos de realização e alegria.

Agradeço a todos os professores que passaram pela minha história e contribuíram deixando seu legado de conhecimento. Em especial minha orientadora Ívina, que além do conhecimento, me incentivou e apoiou na construção desse trabalho.

Agradeço a minha coorientadora Júlia, que deu minha primeira oportunidade de estágio na graduação. Sempre compartilhou todo o conhecimento, me apoiando e incentivando.

Agradeço também a todos os outros amigos e familiares que me apoiaram e incentivaram até aqui.

## RESUMO

ALVES, G. M. C.; SOUZA, I. P.; SOARES, J.C.

Desenvolvimento De Planilha Em Excel Para Avaliação De Risco Em Relação A Impurezas Genotóxicas E Formação De Nitrosaminas Na Rota Sintética Do Insumo Farmacêutico Ativo.

O câncer constitui uma das maiores preocupações relacionadas a saúde mundial, visto que ocupa o segundo lugar geral em causas de mortes por doenças. Dados estatísticos demonstram que nos próximos anos o número de indivíduos afetados e circunstância de óbitos pela doença continuará crescendo. Essas neoplasias são desenvolvidas devido a modificações genéticas que levam a alterações irreversíveis ao DNA, provocando crescimento descontrolado de células e formação de tumores. Dentre as principais causas de desenvolvimento da doença encontra-se a exposição a alguns agentes físicos e/ou químicos, radiação ionizante, compostos genotóxicos presentes no meio, na água e em alimentos e/ou medicamentos. Para garantir a segurança dos indivíduos agências reguladoras atuam avaliando a qualidade e segurança de alimentos, medicamentos, e outros produtos de consumo humano. Em 2018, por meio de guias do ICH inúmeras agências reguladoras adotaram medidas mais rígidas para controle de impurezas genotóxicas. Esse maior rigor foi provocado pela presença de nitrosaminas, compostos conhecidamente genotóxicos, em medicamentos de uso contínuo. Entretanto, o controle de impurezas genotóxicas, como as nitrosaminas, é realizado por técnicas de elevado custo, como espectrometria de massas, o que pode impactar nos preços dos medicamentos disponíveis no mercado. Visando minimizar esses custos, tem sido proposta uma análise estatística prévia, via software desenvolvidos pelo método Q(SAR), que a partir de fórmulas estruturais e propriedades físicas, seja avaliado o nível de mutagenicidade e carcinogenicidade associados à molécula. Porém, tais ferramentas, como o SARAH e DEREK da LHASA, também possuem elevados custos. Assim o presente trabalho propõe o desenvolvimento de uma planilha de Excel, não Q(SAR), utilizando dados de pesquisas sobre identificação de alertas estruturais e possíveis condições de formação de nitrosaminas para auxiliar as farmacêuticas brasileiras a tomarem a melhor decisão quanto ao controle de impurezas genotóxicas em insumos farmacêuticos ativos (IFA's). Usando o software Excel 2019 a planilha foi desenvolvida. Utilizando a patente da Losarnada a planilha foi testada e os resultados obtidos atenderam ao esperado. Dessa forma a planilha auxiliará os utilizadores na tomada de decisão dos passos seguintes a serem adotados no controle de impurezas genotóxicas.

**Palavras-chave:** Avaliação de risco. Excel. Impurezas Genotóxicas. Nitrosaminas.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema genérico de reação de hidrólise de aminas .....	9
Figura 2 – Mecanismo genérico de reação de formação de nitrosaminas .....	9
Figura 3 - Fragmento da primeira aba da planilha de avaliação.....	11
Figura 4 - Fragmento da segunda aba da planilha de avaliação .....	13
Figura 5 - Fragmento da terceira aba da planilha de avaliação.....	13
Figura 6 - Fragmento da quarta aba da planilha de avaliação .....	14
Figura 7 - Fragmento da quarta aba da planilha de avaliação, resultado final .....	15
Figura 8 - Fragmento da 1ª aba da planilha com dados dos componentes químicos da rota sintética da losartana .....	16
Figura 9 - Comparativo entre estruturas de alerta e componentes da rota sintética.....	17
Figura 10 - Identificação de possíveis e componentes formadores de nitrosaminas .....	17
Figura 11 - Resultado final da avaliação .....	18
Figura 12 - Outros possíveis caminhos de formação de nitrosaminas .....	19
Figura 13 - Tipos de amino-compostos passíveis de N-nitrosação.....	20
Figura 14 - Principais agentes nitrosantes .....	20
Figura 15 - Equilíbrio de formação do agente nitrosante ativo .....	20
Figura 16 - Inibidores de N-nitrosação.....	21
Figura 17 - Remoção de nitrito por via de nitrosação .....	22
Figura 18 - Redução do Tri óxido de dinitrogênio pela presença de ácido ascórbico .....	22
Figura 19 - Reação de formação de nitrosaminas catalisadas por formaldeído.....	23
Figura 20 - Mecanismo patenteado de Síntese da losartana .....	25
Figura 21 - Reação de formação da dimetilnitrosamina a partir da trimetilamina .....	25
Figura 22 - Hidroxilação de nitrosaminas mediada pelo sistema P-450 .....	26
Figura 23 - Demonstrativo da execução de comparação entre estrutura de alerta e estruturas de componentes da síntese.....	27
Figura 24 - Substâncias controladas no Guia ICH M7 e questionário de avaliação de risco .....	28
Figura 25 - Reação de obtenção de metanol por meio de hidrogenação .....	29

**LISTA DE QUADROS**

Quadro 1 - Grupos aromáticos .....	6
Quadro 2 - Grupos alquil e aril.....	7
Quadro 3 - Grupos com heteroátomos e ligação carbono-halogênio .....	7

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DMF – Dimetilformamida

EMA – *European Medicines Agency*

FDA – *Food and Drug Administration*

ICH – *International Council for Harmonisation*, em português Conferência Internacional Sobre A Harmonização De Exigências Técnicas Para Produtos Farmacêuticos De Uso Humano.

IFA – Insumo Farmacêutico Ativo

INCA – Instituto Nacional de Câncer

OMS – Organização Mundial de Saúde

ONU – Organização das Nações Unidas

Q(SAR) – *Quantitative structure-activity relationship*

UE – União Europeia



## Sumário

1 INTRODUÇÃO .....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
2.1. Agências regulatórias internacionais, ANVISA e ICH .....	3
2.2. Insumo Farmacêutico Ativo.....	4
<b>2.2.1 Síntese orgânica de IFAs</b> .....	<b>5</b>
2.3. Impurezas genotóxicas .....	5
<b>2.3.1 Estruturas de alerta</b> .....	<b>6</b>
<b>2.3.2 Nitrosaminas</b> .....	<b>8</b>
2.4. Avaliação de risco .....	9
3 PROCEDIMENTO .....	11
3.1. Método de preenchimento da planilha .....	11
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
4.1. Resultados da Inclusão dos dados da Rota sintética da Losartana na planilha de avaliação .....	16
4.2. Avaliação para presença de nitrosaminas .....	18
<b>4.2.1 Avaliação de risco da síntese da Losartana</b> .....	<b>24</b>
4.3. Avaliação para presença de impurezas genotóxicas .....	25
5 CONCLUSÃO .....	30
REFERÊNCIAS .....	31
ANEXO .....	35

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer é uma das doenças com maior mortalidade no século XXI (RITCHIE; ROSER, 2018). Trata-se de uma denominação utilizada para se referir a um conjunto de doenças não transmissíveis caracterizadas por alterações genéticas que provocam o crescimento descontrolado de algumas células. Os tumores formados nessas enfermidades podem se espalhar para diferentes regiões do corpo fazendo do câncer uma doença muito agressiva (INCA, 2019). Estimativas de 2018 mostram que uma a cada seis pessoas pode desenvolver esse mal ao longo da vida (RAHMANA; TOLLEFSBOL, 2021).

A origem dos diferentes tipos de câncer ainda não é completamente esclarecida, mas diversos estudos e institutos de referência como o Instituto Nacional de Câncer, INCA, apontam como principais fatores a exposição do indivíduo a substâncias químicas capazes de formar fortes eletrófilos que interagem facilmente com o ácido desoxirribonucleico, DNA. Outros fatores que podem levar a essas mutações são radiação ionizante, vírus, disfunções hormonais entre outros. Tais fatores podem agir em conjunto ou seguidos para iniciar ou promover o processo de formação desse conjunto de doenças (ANVISA, 2021; INCA, 2019; INCA, 2021).

O crescente número de casos de câncer, especialmente nas últimas décadas, levou agências regulatórias de medicamentos da Europa e Estados Unidos a iniciarem um controle das chamadas impurezas genotóxicas provenientes de substâncias químicas mutagênicas em medicamentos. Tal medida tem como objetivo diminuir os riscos de desenvolvimento de câncer e outras doenças relacionadas a alteração do DNA, uma vez que, mesmo em baixíssimas quantidades, tais substâncias apresentam riscos potenciais (ROBINSON, 2010).

Em 1990, um dos principais marcos no controle mundial de fármacos foi conquistado, a criação da Conferência Internacional Sobre a Harmonização de Exigências Técnicas para Produtos Farmacêuticos de Uso Humano, ICH. A organização é a única que reúne as autoridades regulatórias e indústria farmacêutica no intuito de discutir os aspectos científicos e técnicos para o desenvolvimento de diretrizes de controle em fármacos (ICH, 2021).

Em 2017 o ICH disponibilizou o Guia M7(R1) que trata da avaliação e controle de impurezas reativas ao DNA em produtos farmacêuticos. E no ano de 2019 a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA, apresentou junto a anteriormente outorgada RDC 53 de 2015 o documento “Perguntas e Respostas” com as diretrizes que devem ser seguidas para qualificação de impurezas e produtos de degradação de medicamentos classificados como sintéticos e semissintéticos (ANVISA, 2019). Neste mesmo ano a ANVISA instituiu a RDC Nº

283, de 17 de maio, que dispõe sobre investigação, controle e eliminação de nitrosaminas, potencialmente carcinogênicas, em medicamentos da família das “sartanas”.

Por meio dos órgãos fiscalizadores e ICH a RDC apresenta a importância do controle de impurezas genotóxicas por fabricantes de insumo farmacêutico ativo, IFA, e farmacêuticas responsáveis pela produção e distribuição de medicamentos.

Entretanto, para a realização das análises de detecção e quantificação dessas impurezas é necessária a aplicação de diferentes técnicas de separação, cromatografia líquida ou gasosa, associadas a detectores sensíveis, como espectrômetro de massas entre outros (ANVISA, 2021). Existem também softwares como DEREK, SARAH, VITIC e CARCINOGENICITY que realizam buscas na literatura de estruturas de alerta que podem gerar impurezas genotóxicas, entretanto, assim como os métodos de análise química instrumental, possuem elevados custos de assinatura e utilização. Desta forma o custo de aquisição e funcionamento de tais técnicas compromete a margem de lucros elevando o preço do medicamento e, muitas vezes, tornando sua comercialização desvantajosa.

Levando em consideração a importância do controle das impurezas supracitadas, a viabilidade econômica para execução das análises e aquisição dos equipamentos/software o presente trabalho propõe o desenvolvimento de uma ferramenta computacional no software Excel para avaliação da presença de impurezas genotóxicas e risco da formação de nitrosaminas em IFA, descritas no ICH M7, por meio da análise qualitativa da rota sintética.

Como objetivo do trabalho espera-se que a ferramenta desenvolvida seja eficiente no auxílio aos profissionais competentes para a predição da presença de possíveis impurezas genotóxicas controladas pelo ICH, na identificação de estruturas de alerta e na possibilidade de formação de nitrosaminas no IFA, e que esta possa ser utilizada por indústrias farmacêuticas brasileiras para avaliação da necessidade de realização, ou não, dos testes de mutagenicidade bacteriana e das análises quantitativas para controle destas substâncias químicas relacionadas no produto. No Anexo, é apresentado as etapas indicadas pela ANVISA para a avaliação de risco e as ações necessárias decorrentes do risco identificado associado a presença de nitrosaminas e, assinalado em vermelho, o campo que se deseja abrangência do trabalho.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Agências regulatórias internacionais, ANVISA e ICH.

No final do século passado o papel do Estado perante o surgimento dos diversos setores industriais foi questionado, o que culminou em diversas mudanças e reestruturação. As funções reguladoras foram atribuídas ao Órgão Legislativo no intuito de controlar o mercado e os produtos por ele ofertados e, assim, garantir compatibilidade entre as empresas e acima de tudo a proteção ao consumidor. Assim, surgiram as primeiras agências reguladoras para um novo modelo de regulação para a competição (GROTTI, 2006). Quanto ao setor farmacêutico, verificou-se o surgimento do “*Food and Drug Administration*”, FDA, nos Estados Unidos da América em 1848, a OMS, Organização Mundial de Saúde, fundada em 1948, a “*European Medicines Agency*”, EMA, fundada em 1995 na Europa e, em 1999, a ANVISA no Brasil.

A FDA, agência abrangente de proteção ao consumidor mais antiga do governo federal dos Estados Unidos, usava de análises químicas para monitorar a segurança dos produtos agrícolas. As funções regulatórias modernas da FDA começaram com a aprovação da Lei de Alimentos e Drogas Puras de 1906, que proibia o comércio interestadual de alimentos e medicamentos adulterados e com marcas errôneas. Atualmente a FDA tem desempenhado um papel primordial na promoção da saúde pública e oferece lições importantes a serem consideradas ao avaliarmos os desafios regulatórios (FDA, 2018).

A OMS é uma agência subordinada a Organização Das Nações Unidas, ONU, e tem o objetivo desenvolver ao máximo o nível de saúde de todos os povos. Entre as atividades associadas a OMS cita-se a coordenação dos esforços internacionais para controlar surtos de doenças, supervisionar a implementação do Regulamento Sanitário Internacional, publicar uma série de classificações médicas, entre outros. Entretanto, ao contrário das reguladoras ela não atua como mão do governo na ação vigilância sanitária (WHO, 2021).

A EMA atua em toda a União Europeia (UE) com o dever de garantir a eficácia e segurança dos medicamentos humanos e veterinários e promover a investigação e inovação no desenvolvimento de fármacos. O órgão atua por meio de cooperação dentro da rede europeia reguladora de medicamentos - uma parceria entre a Comissão Europeia e as autoridades reguladoras de medicamentos dos países integrantes da UE. O fluxo de conhecimento entre estas promove e garante os mais altos padrões na regulamentação de medicamentos (EMA<sub>[a]</sub>, 2019).

A ANVISA é uma agência reguladora, sob a forma de gestor, vinculada ao Ministério da Saúde. A nível nacional a agência exerce o controle sanitário de todos os produtos e serviços submetidos à vigilância sanitária. Dentre esses, medicamentos, alimentos, cosméticos, saneantes, derivados do tabaco, produtos médicos, sangue, hemoderivados e serviços de saúde (ANVISA, 2002). Ela foi criada no governo Fernando Henrique Cardoso pela lei nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999. Sua missão principal é: "Promover e proteger a saúde da população e intervir nos riscos decorrentes da produção e do uso de produtos e serviços sujeitos à vigilância sanitária, em ação coordenada com os estados, os municípios e o Distrito Federal, de acordo com os princípios do Sistema Único de Saúde, para a melhoria da qualidade de vida da população brasileira" (ANVISA, 2002).

O Conselho Internacional para Harmonização de Requisitos Técnicos para Medicamentos de Uso Humano, ICH, é uma iniciativa gerada por agências reguladoras e industriais de todo o mundo. Ele surge com o intuito e necessidade de harmonização dos requisitos legais para autorização da comercialização de medicamentos no mundo (ICH, 2021).

Com a globalização e a possibilidade de comercialização de produtos internacionalmente, faz-se necessária uma série de exigências regulatórias, de forma a evitar incidentes relacionados a imprudência do controle de medicamentos, como foi o caso da talidomida em 1990 na Europa. Assim o ICH atua normalizando os controles e auxiliando os órgãos regulatórios (ICH, 2021). Inclusive a ANVISA segue o Guia ICH M7, que trata da avaliação e controle de impurezas reativas ao DNA (mutagênicas) em produtos farmacêuticos para limitar o risco potencial carcinogênico.

## **2.2. Insumo Farmacêutico Ativo**

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, o insumo farmacêutico ativo (IFA) é uma substância, princípio ativo, utilizada em um produto farmacêutico acabado, com função de produzir uma atividade farmacológica ou outro tipo de efeito direto sobre o diagnóstico, cura, mitigação, tratamento ou prevenção de doenças corrigindo ou modificando funções fisiológicas em seres humanos (WHO, 2011).

O IFA pode ser obtido por síntese química, processo de fermentação ou extração vegetal (COIFA, 2021). Em virtude de sua significância para a geração de impurezas genotóxicas e nitrosaminas optou-se por abordar nesse trabalho a avaliação da síntese química.

### 2.2.1 Síntese orgânica de IFAs

A síntese em química orgânica tem sua origem a partir do experimento de Friedrich Wöhler em 1828, com a produção sintética da ureia. Esse experimento abriu caminho para diversas áreas da tecnologia com a possibilidade de reprodução de compostos naturais em laboratório, que antes eram obtidos por extração vegetal/animal ou fermentação, além da síntese de compostos inéditos (SANGI, 2016).

A evolução dos conhecimentos relacionados as técnicas de síntese permitiu grandes avanços para o setor farmacêutico. Entretanto, com a elevada quantidade de reações químicas que ocorre em paralelo, há formação de subprodutos ou “produtos de rearranjo” (FREITAS *et al*, 2017). A presença de tais substâncias e produtos de degradação no IFA é esperada, e estes podem ocorrer em maior ou menor proporção. Porém, a presença de subprodutos ou impurezas é muitas vezes prejudicial e deve ser controlada a níveis aceitáveis de forma a não oferecer riscos, ou minimizá-los ao máximo, a fim de garantir segurança ao consumidor (ICH, 2006).

Atualmente os IFAs comercializados no Brasil seguem padrões internacionais de controle dessas substâncias e são determinados pelas farmacopeias as quais são referentes, ou por especificações internas da indústria. As aceitas pela legislação são descritas na RDC 511 de 27 de maio de 2021. No compêndio geralmente são descritos os principais subprodutos observados na patente da síntese do IFA (ANVISA, 2020). Entretanto, inúmeras rotas sintéticas são possíveis e diversos reagentes e solventes podem ser empregados. Para essas alterações outros subprodutos podem ser formados. O ICH leva em consideração essas informações e apresenta o guia M7(R1), que trata da avaliação e controle de impurezas genotóxicas, e o guia Q3C (R8), que trata do controle de solventes residuais, ambos com foco em produtos farmacêuticos (ICH, 2017).

### 2.3. Impurezas genotóxicas

De acordo com o documento “*Guideline on the limits of genotoxic impurities*” do EMA, entende-se por impurezas genotóxicas os compostos que possuem o potencial para causar danos, por meio de reações químicas, ao DNA, em qualquer nível de exposição, e que podem ser a causa direta ou indireta para desenvolvimento de tumor. Ao reagir com o material genético, tais substâncias podem levar a mutações e conseqüentemente gerar risco de desenvolvimento de câncer. Entretanto, nem toda substância genotóxica é mutagênica ou possui elevado risco associado. Para esclarecer o potencial mutagênico das substâncias são necessários

estudos *in vitro* como o de mutagenicidade bacteriana, ou os estudos *in silico* predizendo características estruturais que podem atribuir a molécula a capacidade de ser metabolizada e produzir fragmentos reativos ao DNA (ICH, 2021; PEDREIRO, 2016).

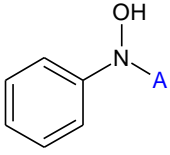
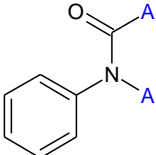
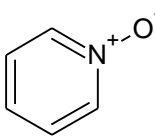
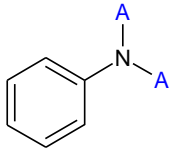
### 2.3.1 Estruturas de alerta

No trabalho publicado por Müller (2006), baseado em Ashby (1988), denominado “*A rationale for determining, testing, and controlling specific impurities in pharmaceuticals that possess potential for genotoxicity*” é proposta a classificação das impurezas de fármacos em 5 classes, dos quais são critérios de enquadramento a estrutura molecular e o conhecimento sobre o potencial genotóxico de tais impurezas. Também é apresentado o termo de alerta funcional. Um alerta funcional é baseado em estruturas reportadas na literatura que possuem capacidade de interação com o DNA de forma a provocar danos irreparáveis que levam a erros na estrutura e conseqüentemente provocam mutações que podem vir a causar uma neoplasia (MÜLLER, L. *et al*, 2006; PEDREIRO, 2016).

Nos Quadros 1 (p.6), 2 (p.7) e 3 (p.7), a seguir, estão apresentados alguns dos principais alertas funcionais referenciados na literatura, e que são comuns em substâncias com potencial genotóxico conhecido. Compostos com essas estruturas são enquadradas na Classe 3, se as estruturas não estão relacionadas à estrutura do IFA e seu potencial genotóxico (mutagênico) é desconhecido. Se existe similaridade com o IFA a impureza é classificada como composto Classe 4, não havendo resultados positivos para mutagenicidade após testes biológicos (MÜLLER, L. *et al*, 2006).

A proposição dos alertas funcionais são frutos de estudos toxicológicos realizados por Cheeseman (1999) e indicam que são reativos com o DNA. Logo compostos que possuam tais estruturas devem ter seu potencial genotóxico aferido (CHEESEMAN, *et al*, 1999).

Quadro 1. Grupos aromáticos

			
<i>N-Hydroxyaryls</i>	<i>N-Acylated aminoaryls</i>	<i>Aza-aryl N-oxides</i>	<i>Aminoaryls and alkylated aminoaryls</i>
A		Alquila; Arila; Hidrogênio	

Fonte: MÜLLER, L. *et al*, 2006 (Adaptado).

Quadro 2. Grupos alquil e aril

<i>Aldehydes</i>	<i>N-Methylols</i>	<i>N-Nitrosamines</i>	<i>Nitro Compounds</i>	<i>Carbamates (Urethanes)</i>
<i>Epoxides</i>	<i>Aziridines</i>	<i>Propiolactones Or Propiosultones</i>	<i>N or S Mustards</i>	<i>Hydrazines and Azo Compounds</i>
A	Alquila; Arila; Hidrogênio			
R	Cadeia Carbônica			

Fonte: MÜLLER, L. *et al*, 2006 (Adaptado).

Quadro 3. Grupos com heteroátomos e ligação carbono-halogênio

<i>Michael-reactive Acceptors</i>	<i>Alkyl Esters of Phosphonates or Sulfonates</i>	<i>Halo-alkenes</i>	<i>Primary Halides (Alkyl and aryl-CH<sub>2</sub>)</i>	
A	Alquila; Arila; Hidrogênio			
R	Cadeia Carbônica			
X	Halogênios (F, Cl, Br, I)			
EWG	<i>Electron withdrawing group</i> (CN, C=O, ésteres, etc)			

Fonte: MÜLLER, L. *et al*, 2006 (Adaptado).



### 2.3.2 Nitrosaminas

Os compostos denominados nitrosaminas são caracterizados pela presença de um grupamento nitroso ( $-N=O$ ) ligado a um grupo funcional amina ( $N-R_1[R_2]$ ). Entre os integrantes desse grupo encontram-se compostos mutagênicos, genotóxicos e potencialmente carcinogênicos. Sua presença já foi reportada em água e alimentos e, em 2018, as agências reguladoras de todo o mundo foram informadas da presença do contaminante em IFAs do grupo denominado família das “sartanas”, antagonistas dos receptores de angiotensina II. Devido ao seu alto potencial carcinogênico, esses compostos passaram a ser controlados por fabricantes de IFAs e demais órgãos reguladores ligados a qualidade de medicamentos de forma a obter concentrações seguras que representem baixo risco de agravos à saúde (FDA, 2020).

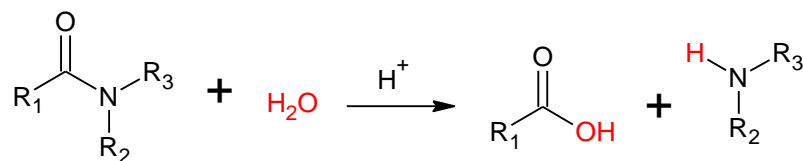
Nos anos subsequentes as principais agências reguladoras, em conjunto com a classe industrial produtora de IFAs, começaram a busca em outros medicamentos passíveis da presença do contaminante nitrosamina. Em 2019 a presença de nitrosaminas em outras classes de medicamentos, como nizatidina, ranitidina e metformina foi evidenciada (ANVISA, 2021).

Assim a presença desse contaminante é comprovada em diversos produtos medicamentosos, fazendo-se necessário verificar e controlar se sua concentração se encontra em níveis seguros aos consumidores. A legislação brasileira atua por meio da RDC nº 283 de 17 de maio de 2019, que dispõe sobre investigação, controle e eliminação de nitrosaminas potencialmente carcinogênicas em antagonistas de receptor de angiotensina II, e em 2021, a agência liberou o Guia nº 50/2021, para controle de nitrosaminas em IFAs e em medicamentos.

#### 2.3.2.1. Condições necessárias para formação

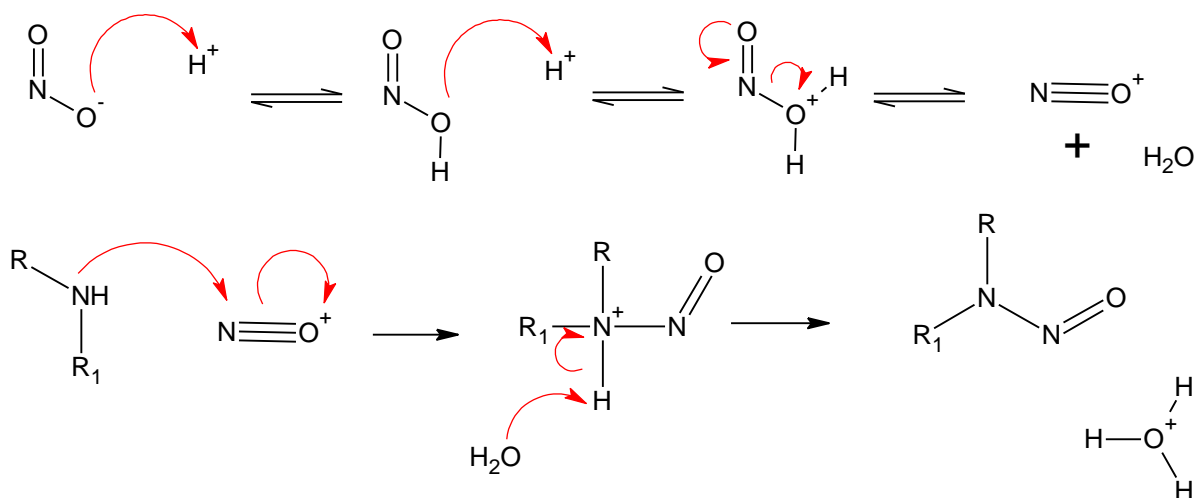
Para a formação de nitrosaminas é impreterível a presença simultânea no meio reacional de uma amina, secundária ou terciária, e um agente nitrosante, como exemplo nitrito de sódio ou ácido nítrico/ácido nitroso, sendo favorecida em reações que ocorrem em meio ácido. Outra possibilidade é de amidas sofrerem hidrólise (Figura 1, p.9) e se tornarem fontes de aminas secundárias para uma posterior formação de nitrosaminas. Para avaliar o risco de formação é preciso avaliar não somente uma etapa da síntese, mas todas, pois aminas ou agentes nitrosantes utilizados em outras etapas podem ser carreados durante a produção e sua interação em uma etapa posterior pode culminar na formação do contaminante. Um exemplo do esquema da reação pode ser observado a seguir na Figura 2 (p.9) (ANVISA, 2021).

Figura 1. Esquema genérico de reação de hidrólise de aminas



Fonte: Próprio, 2021.

Figura 2. Mecanismo genérico de reação de formação de nitrosaminas



Fonte: Próprio, 2021.

## 2.4. Avaliação de risco

Segundo o guia ICH Q9, de gestão do risco à qualidade, uma avaliação de riscos deve se basear no conhecimento científico. O termo risco é definido, no guia, como uma combinação de probabilidades de ocorrência de dano e gravidade de dano. Assim uma avaliação de risco no medicamento será um estudo com base teórica consolidada que investigará por determinado método o grau de probabilidade de ocorrência de um dano e a gravidade, gerado pela exposição a contaminantes e impurezas, e como isto afetará o consumidor final (ICH, 2005).

Em 2019 o EMA determinou que as indústrias farmacêuticas teriam de realizar uma avaliação de risco quanto a presença de nitrosaminas no produto final, o medicamento, através do documento “*information on nitrosamines for marketing authorisation holder*”, em duas fases. Na primeira fase o produtor do IFA deve avaliar o risco teórico da formação do contaminante. E caso ocorra a confirmação teórica a segunda fase deve ser aplicada. Na segunda fase a(s) impureza(s) é(são) identificada(s), seu(s) potencial(is) genotóxico(s) é(são) avaliado(s) e seus

valores limites são determinados. Assim parâmetros de qualidade relacionados ao controle de nitrosaminas são estabelecidos para a circulação de medicamento na Europa (EMA<sub>[b]</sub>,2019).

A ANVISA utiliza a RDC 283/2019 que é embasada no guia ICH M7 que trata do controle de impurezas reativas ao DNA. No artigo terceiro da legislação, RDC 283/2019, é determinado que as farmacêuticas devem realizar uma avaliação do processo de produção do IFA e verificar a possibilidade de formação de nitrosaminas potencialmente carcinogênicas, avaliando todos os parâmetros químicos envolvidos na síntese (reagentes, solventes, degradação e contaminação cruzada) (ANVISA<sub>[b]</sub>, 2019).

### 3 PROCEDIMENTO

O foco desse trabalho, “DESENVOLVIMENTO DE PLANILHA EM EXCEL PARA AVALIAÇÃO DE RISCO EM RELAÇÃO A IMPUREZAS GENOTÓXICAS E FORMAÇÃO DE NITROSAMINAS NA ROTA SINTÉTICA DO INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO”, consiste na pesquisa bibliográfica juntamente com aplicação de conhecimentos de programação em Excel VBA, *Visual Basic for Applications*, para construção da planilha em Microsoft Excel versão 2019.

O desenvolvimento teórico para avaliação da presença de impurezas genotóxicas e estruturas de alerta e formação de nitrosaminas foi embasado na busca de informações relevantes em artigos científicos, via portal Capes, disponíveis nas bases de dados de Science Direct, Web Of Science, Scielo, entre outros, além de guias disponibilizados publicamente pela ANVISA. Como estratégia para a busca eletrônica utilizou-se as seguintes palavras-chave no foco de pesquisa: Impurezas Genotóxicas, Nitrosaminas, Limites de exposição diários a impurezas genotóxicas, Critérios de avaliação para impurezas Genotóxicas, Fatores que influenciam e inibem formação de nitrosaminas, Câncer e possíveis agentes carcinogênicos. Os termos foram pesquisados em língua inglesa e portuguesa. Os artigos e guias com informações pertinentes servem de base teórica para o julgamento da síntese e posterior resultado que será indicado na planilha.

#### 3.1. Método de preenchimento da planilha

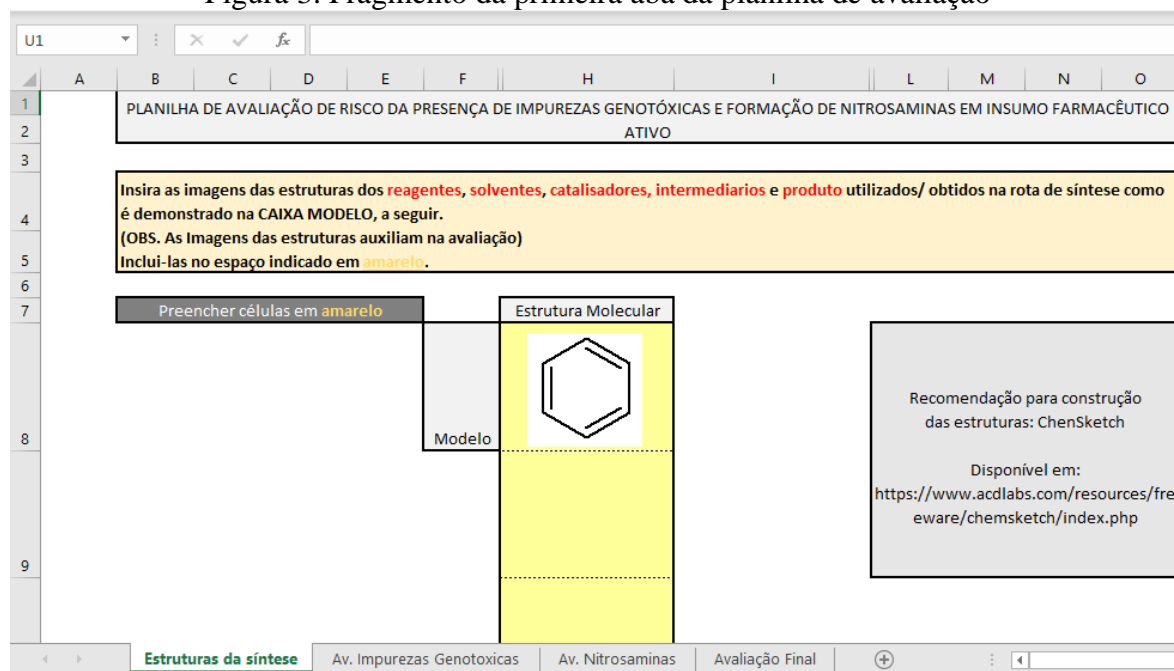
O método de preenchimento da planilha requer que o responsável pela avaliação da rota sintética do insumo farmacêutico possua conhecimento das estruturas químicas do(s) reagente(s) e solvente(s) utilizado(s) na síntese.

Para obtenção das estruturas, caso estas não sejam apresentadas detalhadamente no documento da rota sintética, o operador pode acessar o site do acdlabs, apresentado na planilha, e obter o programa ChemSketch para construção da estrutura das moléculas. Após a obtenção das fórmulas estruturais dos reagentes, solventes, catalisadores, intermediários e produto(s) o preenchimento da planilha pode ser iniciado.

A planilha é constituída de quatro abas nomeadas sequencialmente de “Estruturas da síntese”, “Av. Impurezas Genotóxicas”, “Av. Nitrosaminas” e “Avaliação Final”, Figuras 3 (p.12), 4 (p.13), 5 (p.13) e 6 (p.14). As abas devem ser preenchidas na ordem de apresentação.

A aba “Estruturas da síntese” (Figura 3) é a primeira a ser preenchida. Nela há informações de como proceder com o preenchimento, no intuito de auxiliar o executor na atividade. O operador por meio das funções de recorte e colagem, do sistema operacional utilizado, deverá inserir as estruturas dos componentes químicos da síntese nos espaços exatos delimitados indicados em amarelo. A ordem de organização das estruturas não é um fator determinante, entretanto é necessário que todas as substâncias químicas indicadas na síntese estejam presentes para uma avaliação eficiente.

Figura 3. Fragmento da primeira aba da planilha de avaliação



Fonte: Próprio, 2021.

Após o preenchimento das estruturas das substâncias envolvidas na síntese o operador deve seguir para avaliação na próxima aba, “Av. Impurezas Genotóxicas” (Figura 4, p. 13). Nesta o analista identificará de forma visual a similaridade entre as estruturas de alerta apresentadas e as substâncias químicas da síntese (reagentes, solventes catalisadores, intermediários e produto). No espaço indicado em amarelo o executor da avaliação irá assinalar “Sim” ou “Não” para indicar a similaridade ou ausência desta. Terminada a avaliação de similaridade entre todas as substâncias químicas da síntese e as estruturas de alerta apresentadas, o analista deve prosseguir para a próxima etapa.

Figura 4. Fragmento da segunda aba da planilha de avaliação

	A	B	C	D	E	F
2		REAGENTE	Reagente 1	Reagente 2	Reagente 3	Reagente 4
3		Existe Similaridade entre as estruturas?				
4	Legenda					
5	A Alquila; Arlila; Hidrogênio.					
6	R <sub>2</sub> F Cl Br I					

Fonte: Próprio, 2021.

O preenchimento da terceira aba (Figura 5) deve ser executado como na aba anterior. Os campos em amarelo devem ser respondidos, usando o recurso automático da planilha, com a palavra “Sim” quando houver similaridade/presença do composto na rota, ou com a palavra ausência “Não” em caso da resposta negativa.

Figura 5. Fragmento da terceira aba da planilha de avaliação



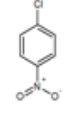












	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
1	<b>Mecanismo de Formação</b>													
2														
3	<b>Agente Nitrosante</b>													
4	<b>Não presença de alguns dos</b>													
5	Reagente de Síntese e Reagente de Referência													
6														
7														
8														
9														
10														
11														

Fonte: Próprio, 2021.

A última aba, “Avaliação Final”, (Figura 6) apresenta as impurezas genotóxicas descritas no ICH M7, e um questionário contendo 9 perguntas relacionadas a rota de síntese e

as impurezas genotóxicas apresentadas. Estas devem ser respondidas pelo operador a fim de finalizar a avaliação. Se na questão 5 for indicada a presença de amina ou amida a questão 6 deve ser respondida. Na questão 6 é solicitado ao operador que informe a faixa de pH da etapa crítica da síntese. Entende-se como etapa crítica a etapa onde todos os possíveis reagentes para a formação da nitrosaminas (fonte de nitrito [ou nitrato] + fonte de amina secundária) estão presentes. Caso estejam ausentes estes dois reagentes o campo pode ser deixado em branco. Se um deles estiver presente, a etapa onde ele é adicionado ou formado passa a ser considerada a etapa crítica e o pH tem que ser indicado para uma melhor avaliação.

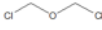

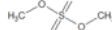





Figura 6. Fragmento da quarta aba da planilha de avaliação

Substâncias com Limite de Ingestão Diária Máxima Descrita no Guia ICH M7								
Estrutura								
Nome	Benzeno	Cloreto de benzilo	1-Cloro-4-nitrobenzeno	2-Metoxi-5-metil-anilina	p-Cloroanilina	Anilina ou Cloreto de anilínio	Cloreto de dimetilcarbamoilo	
Estrutura								
Nome	Bis (clorometil) éter	Cloreto de etila	Sulfato de dimetila	Acritonitrila	2,3-Epoxy-1-propanol	Peroxido de Hidrogenio	Clorometano	Hidrazina
<b>Questionário de avaliação</b>								
1	Alguma das substâncias químicas apresentadas anteriormente estão (podem estar) presentes na rota sintética ( como participantes efetivos da síntese ou como impurezas dos reagentes, solventes ou catalisadores)?							
2	É utilizado metanol na rota sintética?							
3	Na rota é utilizado gasolina, diesel ou xileno?							
4	Finalizada as etapas de síntese o IFA passa por alguma exposição a radiação UV?							
5	Presença de amina ou amida (secundária/ terciária)?							
6	pH da(s) etapa(s) crítica da síntese:							
7	Uso de ácido nítrico ou nitroso?							
8	O IFA é embalado em nitrocelulose?							
9	Água de processo pode conter nitrosaminas?							
<b>Resposta de Risco Associado</b>								
RISCO	Nitrosaminas Imp. Genotóxicas	<b>Baixo risco de presença de nitrosamina</b> <b>Não foram detectadas estruturas de alerta ou impurezas genotóxicas limitadas pelo ICH</b>						

Fonte: Próprio, 2021.

Os resultados teóricos positivos para possível presença de impurezas genotóxicas e formação de nitrosaminas serão apresentados na área risco (células B23:K24) após o preenchimento das abas anteriores e questionário (Figura 7).

Figura 7. Fragmento da quarta aba da planilha de avaliação, resultado final

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
4			Nome	Benzeno	Cloreto de benzilo	1-Cloro-4-nitrobenzeno	2-Metoxi-5-metilaniлина	p-Cloroaniлина	Anilina ou Cloreto de anilinium		Cloreto de dimetilcarbamilo
5			Estrutura								
6			Nome	Bis (clorometil) éter	Cloreto de etila	Sulfato de dimetilo	Acilonitrila	2,3-Epoxy-1-propanol	Peroxido de Hidrogenio	Clorometano	Hidrazina
7			<b>Questionário de avaliação</b>								
8			Alguma das substâncias químicas apresentadas anteriormente estão (podem estar) presentes na rota sintética ( como participantes efetivos da síntese ou como impurezas dos reagentes, solventes ou catalisadores)?								
9			E utilizado metanol na rota sintética?								
10			Na rota é utilizado gasolina, diesel ou xileno?								
11			Finalizada as etapas de síntese o IFA passa por alguma exposição a radiação UV?								
12			Presença de amina ou amida (secundária/ terciária)?								
13			pH da(s) etapa(s) crítica da síntese:								
14			Uso de ácido nítrico ou nitroso?								
15			O IFA é embalado em nitrocelulose?								
16			Água de processo pode conter nitrosaminas?								
17			Resposta de Risco Associado								
18			Resposta de Risco Associado								
19			Resposta de Risco Associado								
20			Resposta de Risco Associado								
21			Resposta de Risco Associado								
22			Resposta de Risco Associado								
23			Resposta de Risco Associado								
24			RISCO	Nitrosaminas Imp. Genotóxicas		<b>Baixo risco de presença de nitrosamina</b> <b>Não foram detectadas estruturas de alerta ou impurezas genotóxicas limitadas pelo ICH</b>					
25											
26											
27											
28											
29											
30											
31											
32											
33											
34											
35											
36											
37											
38											
39											
40											
41											
42											
43											
44											
45											
46											
47											
48											
49											
50											
51											
52											
53											
54											
55											
56											
57											
58											
59											
60											
61											
62											
63											
64											
65											
66											
67											
68											
69											
70											
71											
72											
73											
74											
75											
76											
77											
78											
79											
80											
81											
82											
83											
84											
85											
86											
87											
88											
89											
90											
91											
92											
93											
94											
95											
96											
97											
98											
99											
100											

Fonte: Próprio, 2021.



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a avaliação inicialmente foram obtidas as estruturas químicas dos reagentes utilizados na síntese da losartana. Essas estruturas foram importadas para a planilha como imagens separadas. Estas foram posicionadas nos campos indicados na primeira aba da planilha. As imagens foram espelhadas, ou seja, automaticamente aparecem nas demais abas para a realização da avaliação, como descrito nos tópicos a baixo.

### 4.1. Resultados da inclusão dos dados da rota sintética da Losartana na planilha de avaliação

Na exemplificação do uso da planilha foi utilizada a patente nº US 7,915.425 B2 correspondente a síntese da losartana, insumo farmacêutico ativo o qual serviu de alerta para as agências reguladoras sobre a presença de nitrosaminas em fármacos. Conhecidamente este IFA apresenta resultado positivo na análise de risco e também testes laboratoriais que indicam a contaminação por nitrosaminas. Dessa forma o controle dessas impurezas é realizado dentro das especificações de comercialização, seguindo o Guia ICH M7 e RDC 283/2019.

Inicialmente a rota sintética foi estudada e as estruturas dos componentes químicos foram transferidas para a primeira aba da planilha (Figura 8, p. 17).

Figura 8. Fragmento da 1ª aba da planilha com dados dos componentes químicos da rota sintética da losartana

The image shows a fragment of an Excel spreadsheet with the following content:

- Header (Row 1):** PLANILHA DE AVALIAÇÃO DE RISCO DA PRESENÇA DE IMPUREZAS GENOTÓXICAS E FORMAÇÃO DE NITROSAMINAS EM INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO
- Instructions (Row 4):** Insira as imagens das estruturas dos reagentes, solventes, catalisadores, intermediários e produto utilizados/ obtidos na rota de síntese como é demonstrado na CAIXA MODELO, a seguir. (OBS. As Imagens das estruturas auxiliam na avaliação) Inclua-as no espaço indicado em amarelo.
- Modelo (Row 8):** A vertical column of yellow cells labeled 'Estrutura Molecular' containing chemical structures: a benzene ring, a benzene ring with a nitro group, a benzene ring with a nitro group and a carbonyl group, a benzene ring with a nitro group and a carbonyl group, and a potassium ion with a carbonyl group.
- Recommendation (Row 8):** Recomendação para construção das estruturas: ChenSketch. Disponível em: <https://www.acdlabs.com/resources/freewarechemsketch/index.php>
- Footer (Row 12):** Estruturas da síntese | Av. Impurezas Genotóxicas | Av. Nitrosaminas | Avaliação Final

Fonte: Próprio, 2021.

Na segunda aba foi realizada a avaliação quanto à similaridade dos componentes químicos da rota com as estruturas de alerta apresentadas por Müller (2006) (Figura 9).

Figura 9. Comparativo entre estruturas de alerta e componentes da rota sintética da losartana

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
1	Receptos															
2	REAGENTE	Recepto1	Recepto2	Recepto3	Recepto4	Recepto5	Recepto6	Recepto7	Recepto8	Recepto9	Recepto10	Recepto11	Recepto12	Recepto13	Recepto14	
3	Esta Similaridade existe na estrutura?															
4	Legenda	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	
5	Alcalóides, Anilina, Hidrazina	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	
6	Bz, F, Cl, Br, I	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	
7	EMS, DO, OH, Grupos reativos de Elétrons	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	
8		NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	
9		NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	
10		NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	

Fonte: Próprio, 2021.

Em seguida a identificação de possíveis componentes reativos (agente nitrosante, fonte de amina, catalisadores [como íons halogênio] e inibidores) necessários a formação de nitrosaminas foi realizada como ilustrado na Figura 10.

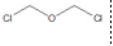
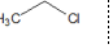
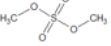
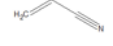
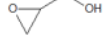
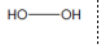
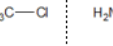
Figura 10. Identificação de possíveis componentes formadores de nitrosaminas

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4	Há presença de alguma das estruturas a seguir na rota sintética analisada?									
5	Reagentes de Nitrosação e Reagentes de amina								Catalisadores	
13		NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
14		NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
15		NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
16		SIM	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
17	HCl	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	SIM	NÃO
18		NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	SIM	NÃO	NÃO
19		NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO

Fonte: Próprio, 2021.

Ao final da avaliação foi respondido o questionário, assim tem-se o retorno do resultado final. Como esperado, a possibilidade da presença de nitrosaminas foi indicada, e um dos compostos utilizados na síntese apresentou uma estrutura de alerta, (Figura 11, p. 17). Dessa forma, seguindo o descritivo da ANVISA, etapas práticas de bancada, devem ser realizadas a fim de identificar a presença de nitrosaminas, e quantificá-las caso realmente presentes. Ademais, para o composto com estrutura de alerta, pesquisa adicional de determinação de genotoxicidade deve ser realizada. Se não forem encontrados dados na literatura testes de mutagenicidade e carcinogenicidade devem ser executados.

Figura 11. Resultado final da avaliação

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	
4			Nome	Benzeno	Cloreto de benzilo	1-Cloro-4-nitrobenzeno	2-Metoxi-5-metilaniлина	p-Cloroanilina	Anilina ou Cloreto de anilinium		Cloreto de dimetilcarbamilo	
5			Estrutura									
6			Nome	Bis (clorometil) éter	Cloreto de etila	Sulfato de dimetil	Acrilonitrila	2,3-Epoxy-1-propanol	Peroxido de Hidrogenio	Clorometano	Hidrazina	
7												
8			<b>Questionário de avaliação</b>									
9			Alguma das substâncias químicas apresentadas anteriormente estão (podem estar) presentes na rota sintética ( como participantes efetivos da síntese ou como impurezas dos reagentes, solventes ou catalisadores)?									
10			1								NÃO	
11			2	É utilizado metanol na rota sintética?							NÃO	
12			3	Na rota é utilizado gasolina, diesel ou xileno?							NÃO	
13			4	Finalizada as etapas de síntese o IFA passa por alguma exposição a radiação UV?							NÃO	
14			5	Presença de amina ou amida (secundária/ terciária)?							NÃO	
15			6	pH da(s) etapa(s) crítica da síntese:							3 ≤ pH ≤ 4	
16			7	Uso de ácido nítrico ou nítrico?							NÃO	
17			8	O IFA é embalado em nitrocelulose?							NÃO	
18			9	Água de processo pode conter nitrosaminas?							NÃO	
19												
20			<b>Resposta de Risco Associado</b>									
21												
22												
23			RISCO	<b>Risco de presença de nitrosamina</b>								
24				<b>Detectada estrutura de alerta, necessária pesquisa de mutagenicidade/carcinogenicidade</b>								
25												
26												
27												

Fonte: Próprio, 2021.

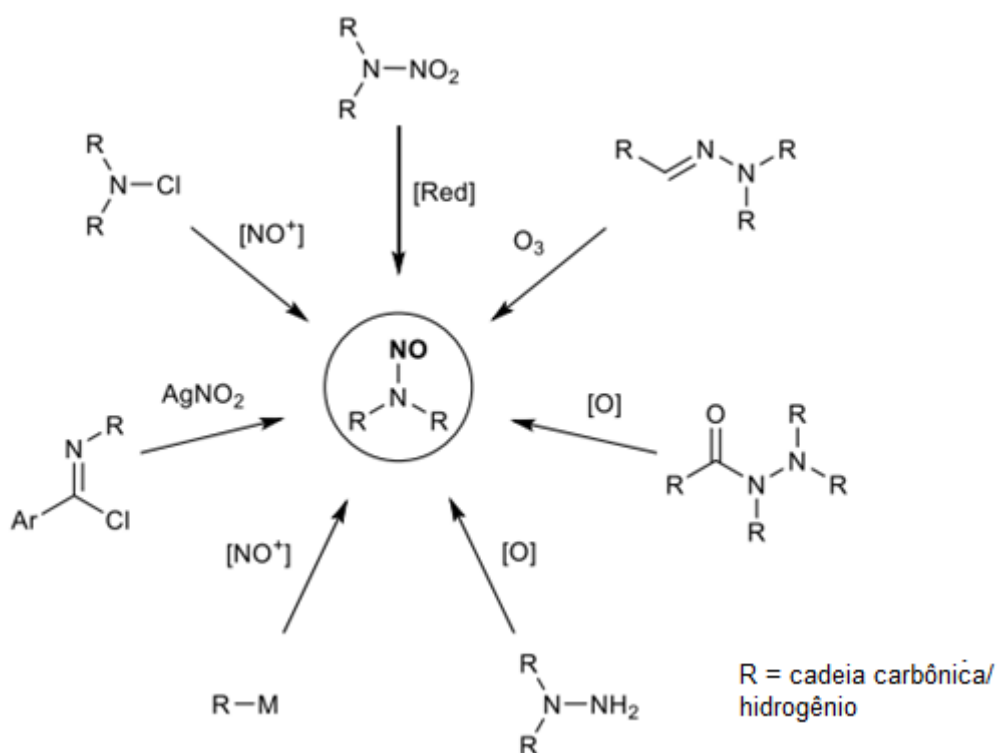
## 4.2. Avaliação para presença de nitrosaminas

A identificação de risco elevado para a presença de nitrosaminas é retornado através das respostas obtidas na aba “Av. Nitrosaminas” e no questionário de “Avaliação Final”.

A aba “Av. Nitrosaminas” apresenta na linha 5B:5O estruturas químicas de reagentes fundamentais para a formação de nitrosaminas e inibidores da reação. Segundo Rath & Canaes (2009) para que ocorra a formação de nitrosaminas é necessária a presença de uma amina secundária e um agente nitrosante. Vale ressaltar, entretanto, que aminas secundárias podem ser formadas a partir de aminas primárias ou terciárias, hidrólise de amidas e outros compostos que possuam átomo de nitrogênio ligado a cadeias carbônicas. Dentre as condições ideais para a formação da impureza em meio aquoso, o pH considerado ideal é na faixa de 3,0 a 3,4 (DOUGLASS, 1978).

LÓPEZ-RODRÍGUEZ (2020), em seu trabalho “*Pathways for N-Nitroso Compound Formation: Secondary Amines and Beyond*”, descreve outros possíveis caminhos para formação de nitrosaminas além da N-nitrosação (Figura 12). Todavia as condições são extremas e pouco prováveis de serem aplicadas em rotas sintéticas de insumos farmacêuticos, uma vez que tais processos e condições podem gerar outros produtos indesejáveis, além das nitrosaminas, e reações descontroladas que não são interessantes para o setor industrial. Dessa forma, esse trabalho se detém em focar o caminho de reação majoritariamente descrito na literatura, N-nitrosação de aminas secundárias e outros amino-compostos.

Figura 12. Outros possíveis caminhos para a formação de nitrosaminas

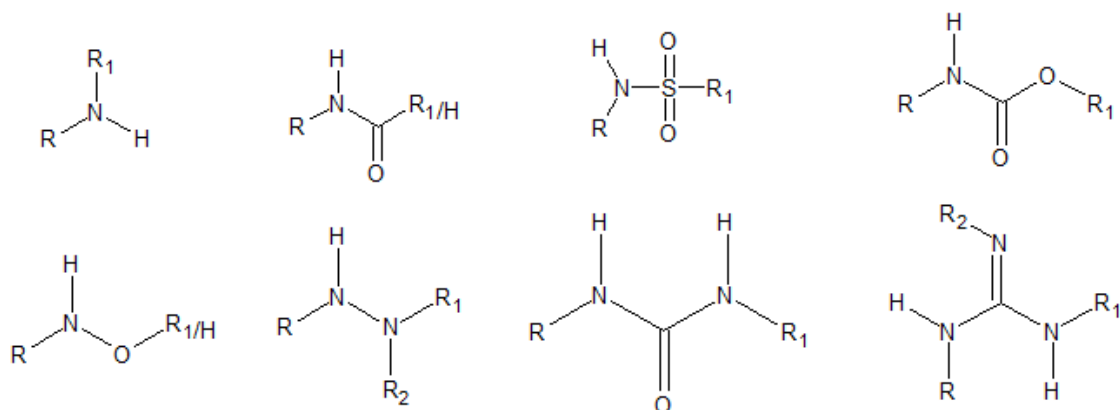


Fonte: LÓPEZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2020.

Nesse contexto, a avaliação tem por base a comparação e identificação dos componentes químicos presentes na rota sintética do IFA e as possíveis similaridades estruturais com os reagentes essenciais a formação das nitrosaminas, ou seja, um composto nitrogenado e um agente nitrosante.

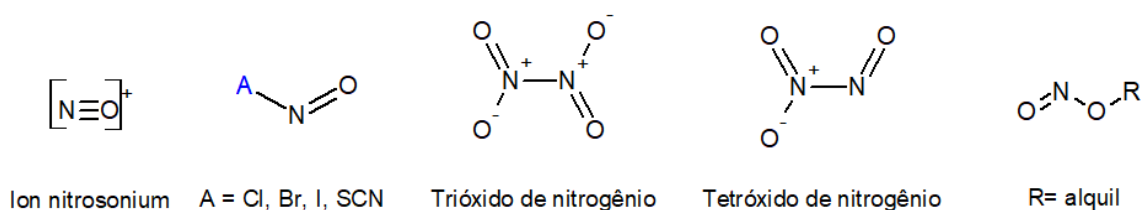
LÓPEZ-RODRÍGUEZ (2020) destaca os possíveis compostos nitrogenados que, facilmente, podem sofrer N-nitrosação (Figura 13) e também apresenta os principais agentes nitrosantes ativos (Figura 14).

Figura 13. Tipos de amino-compostos passíveis de N-nitrosação



Fonte: Adaptado de LÓPEZ-RODRÍGUEZ *et al*, 2020.

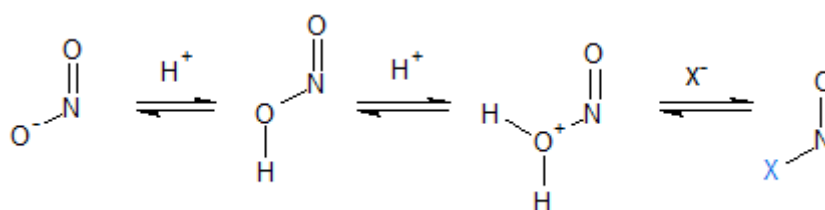
Figura 14. Principais agentes nitrosantes



Fonte: Adaptado de LÓPEZ-RODRÍGUEZ *et al*, 2020.

Após a identificação de tais compostos realiza-se a avaliação da presença de possíveis catalisadores e inibidores. De acordo com Archer, M. C. (1976 *apud* SUSANNE RATH & LARISSA S. CANAES, 2009) a presença de nucleófilos, tais como haletos e ou íon tiocianato, em meio ácido, favorece a clivagem do grupo nitroso influenciando, assim, na formação de um agente nitrosante mais potente. A Figura 15 (p. 20) descreve o possível equilíbrio de formação do agente.

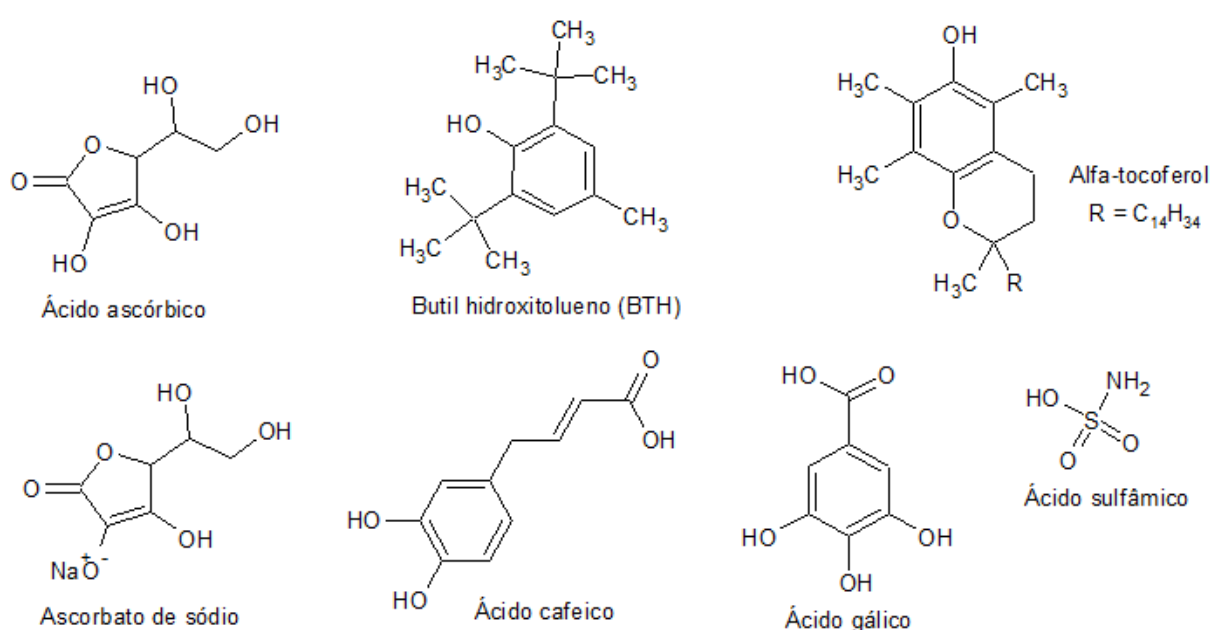
Figura 15. Equilíbrio de formação do agente nitrosante ativo



Fonte: Adaptado de LÓPEZ-RODRÍGUEZ (2020).

De acordo com NANDA (2021), é possível o controle de outras impurezas durante a rota, como por exemplo a purga, processo de eliminação utilizando substituição de solventes. Entretanto, para nitrosaminas a purga é incapaz de eliminá-las completamente. Assim, o melhor processo de mitigação do risco é a utilização de inibidores. Esses compostos atuam competindo com os demais compostos de forma a neutralizar agentes nitrosantes e conseqüentemente impedir a nitroação dos N-compostos. Alguns dos possíveis inibidores estão apresentados na Figura 16.

Figura 16. Inibidores de N-nitroação



Fonte: Próprio, 2021.

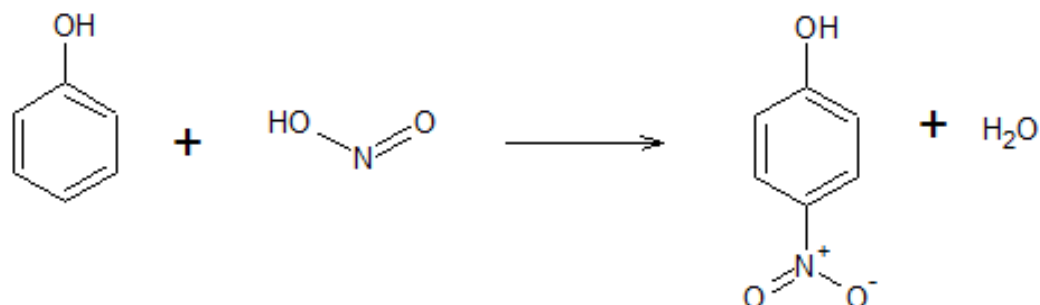
Douglass (1978) e Rath & Canaes (2009) apresentaram possíveis reações dos inibidores com os agentes nitrosantes.

Segundo reação proposta por Douglass (1978) (Figura 17, p. 22) uma forma de eliminar o nitrito presente no meio é a adição de competidores mais reativos, como o fenol. Nessa reação uma substituição eletrofilica é observada e o nitrito, incorporado à molécula, é retirado do meio.

Rath & Canaes (2009) propuseram uma reação de redução do trióxido de dinitrogênio na presença de ácido ascórbico (Figura 18, p. 22). Nesse processo, é formado o radical NO que é inativo para reações de N-nitroação. Isto pois o processo de formação de nitrosaminas se dá por meio do ataque da amina secundária ao agente nitrosante, que é uma espécie deficiente em elétrons, como exemplo o nitrosônio ([NO]<sup>+</sup>). Embora seja instável, a presença do elétron

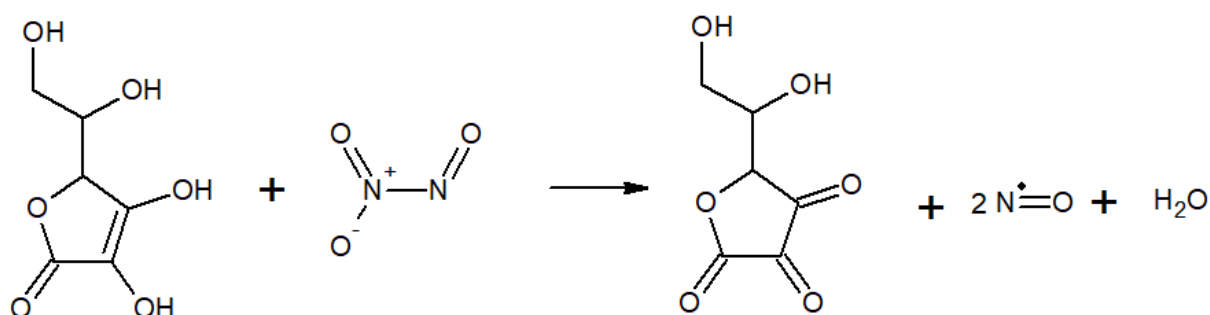
desemparelhado faz com que ele não seja susceptível à reação com nitrogênio de aminas secundárias, em outras palavras o radical não é um eletrófilo.

Figura 17. Remoção de nitrito via de nitroação



Fonte: DOUGLASS (1978).

Figura 18. Redução do trióxido de dinitrogênio em presença de ácido ascórbico

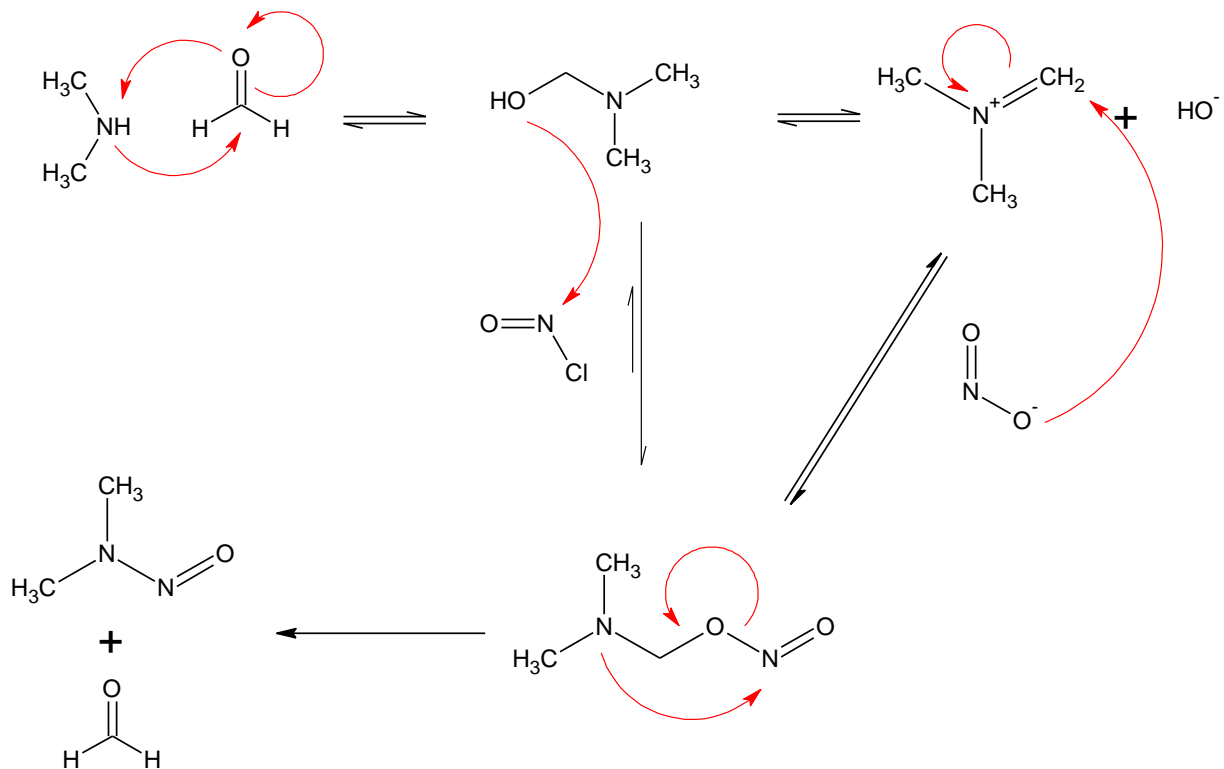


Fonte: RATH & CANAES (2009).

O ICH Q3C não estabelece limites para o uso de fenol, embora tal reagente seja considerado extremamente tóxico pelo FDA e outras entidades regulatórias. Dessa forma, tal composto não foi incluído como possível inibidor em rotas sintéticas e sua estrutura não é descrita na planilha de avaliação.

Inúmeros autores reportaram maior probabilidade de formação de nitrosaminas em meio ácido, próximo ao pKa do ácido nitroso. Entretanto, estudos como o realizado por Challis & Trew (1995) demonstram que em meio reacional neutro/alcalino, em presença de formaldeído, é possível a ocorrência da reação de N-nitrosação (Figura 19, p. 23).

Figura 19. Reação de formação de nitrosaminas catalisadas por formaldeído



Fonte: Adaptado CHALLIS *et al*, 1995.

Na aba “Avaliação Final” os questionamentos de quatro a nove são também referentes a formação de nitrosaminas. A questão quatro leva em consideração a possível destruição de nitrosaminas formadas, uma vez que Douglass (1978) indica que a exposição do composto a radiação ultravioleta promove a decomposição deste em aldeído, gás nitrogênio ou amina dependendo provavelmente das características da nitrosaminas e a duração de exposição à radiação. Loeppky (1994) reafirma em seu trabalho que a foto decomposição das nitrosaminas ocorre quando estas são expostas a radiação ultravioleta.

As perguntas cinco, seis e sete são referentes a avaliação do operador em questões anteriormente citadas sobre a presença de aminas/amidas, o pH de síntese e uso de ácidos nitrogenados, fatores que corroboram com a formação da impureza.

A questão oito da planilha de avaliação aborda um ponto crítico citado no Guia de controle de nitrosaminas da ANVISA (2021), pois a embalagem primária em que o IFA é condicionado pode interferir na segurança do produto. Estudos revelaram que a nitrocelulose, material utilizado em embalagem de medicamento, pode reagir com aminas secundárias promovendo a formação de nitrosaminas (RODRIGUES *et al*, 2018).



A pergunta de número nove é referente a contaminação que possa ser carreada por meio de água de processo. De acordo com o FDA (2021) as nitrosaminas podem estar presentes em água, alimentos e outros produtos. Nanda (2021) indica que nitrosaminas, diferentemente de outras impurezas, não podem ser purgadas de medicamentos. Logo, uma vez em contato com o IFA, dificilmente a impureza será eliminada. Assim faz se necessário o controle de possíveis fontes de contaminação, tais como indicar a origem da água, solvente comumente utilizado em processos de síntese para a produção de medicamentos.

Considerando todos os fatores supracitados, a planilha retorna com o valor “possível formação de nitrosaminas”.

O alto risco é sinalizado quando agente nitrosante, composto passível de N-nitrosação e pH favorável a formação na nitrosaminas são indicados pelo operador. Também é levado em consideração a presença de aldeídos em meio neutro/alcalino, a embalagem com nitrocelulose, e a utilização de água na síntese/fabricação do medicamento que possa gerar contaminação cruzada ou por arraste.

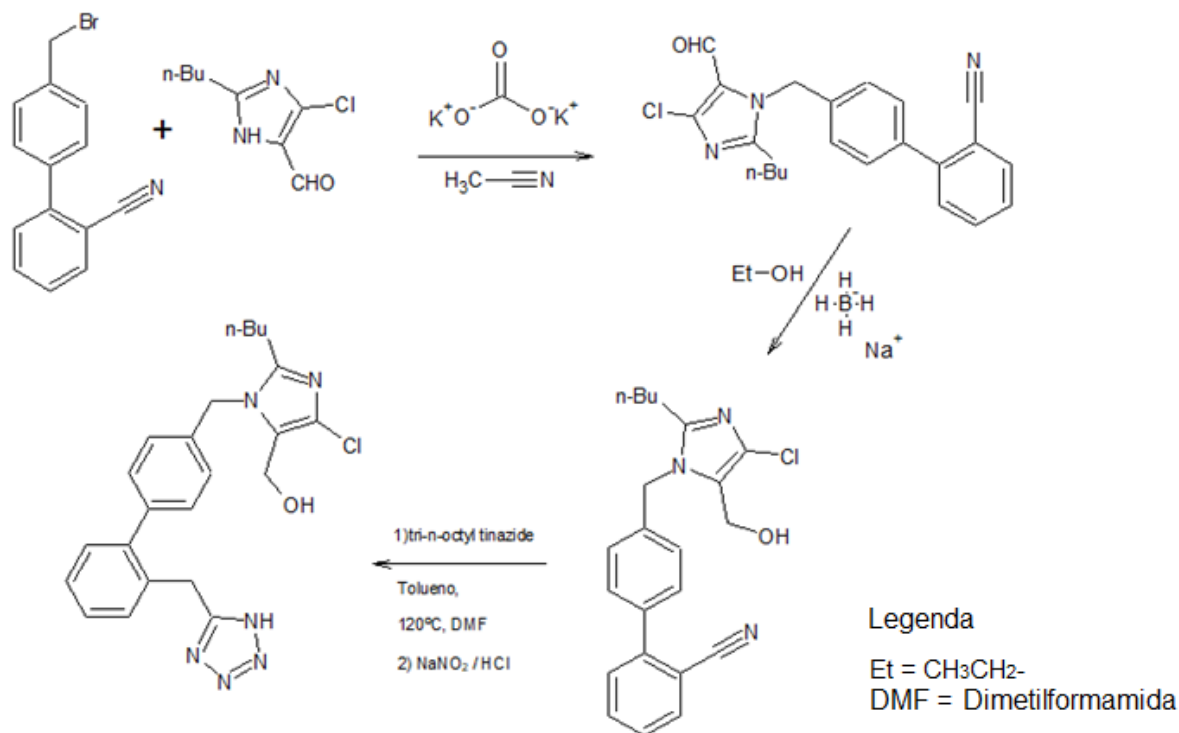
Em caso da presença de inibidores o risco é mitigado, uma vez que estes impedem a formação de agentes nitrosantes ativos no meio. Outro fator que diminui o risco da presença de nitrosaminas é a exposição do IFA, ou medicamento, a radiação ultravioleta, uma vez que esta promove a decomposição da impureza.

#### ***4.2.1 Avaliação de risco da síntese da Losartana***

A Losartana é um medicamento da família das “sartanas”, utilizado como antagonista dos receptores de angiotensina II, controle de pressão arterial. Em 2018, agências reguladoras obtiveram ciência da presença de nitrosaminas, em níveis acima do considerado seguro, para medicamentos que apresentam Losartana como princípio ativo.

De fato, a rota sintética apresentada por Arava Veera Reddy (2011) (Figura 20, p. 25), utiliza dimetilformamida (DMF), ácido clorídrico e nitrito de sódio, o que leva a formação da dimetilnitrosamina. Logo, seria previsto que a avaliação de risco deste medicamento fosse positiva, o que de fato ocorreu (Figura 11, p. 18). Vale ressaltar que a presença de todos esses reagentes na rota sintética eleva a probabilidade de formação de contaminantes genotóxicos, sendo necessária a realização de testes laboratoriais para identificar a(s) nitrosamina(s) formada(s) e quantificá-la(s), e, assim, garantir níveis de exposição seguros ao consumidor.

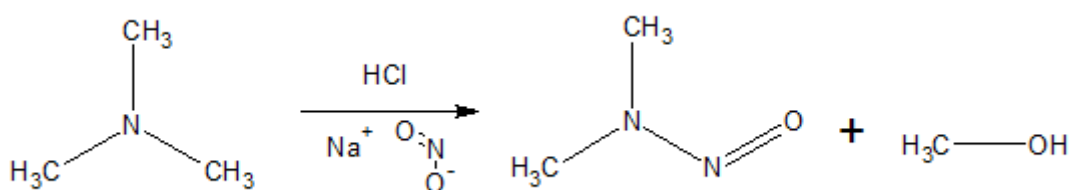
Figura 20. Reação da síntese patenteada da Losartana



Fonte: Adaptado Patente US 7,915.425 B2 (2005).

A Figura 21 apresenta um mecanismo de formação da dimetilnitrosamina a partir da amina terciária trimetilamina.

Figura 21. Reação de formação da dimetilnitrosamina a partir da trimetilamina



Fonte: ANVISA<sub>[b]</sub> (2021).

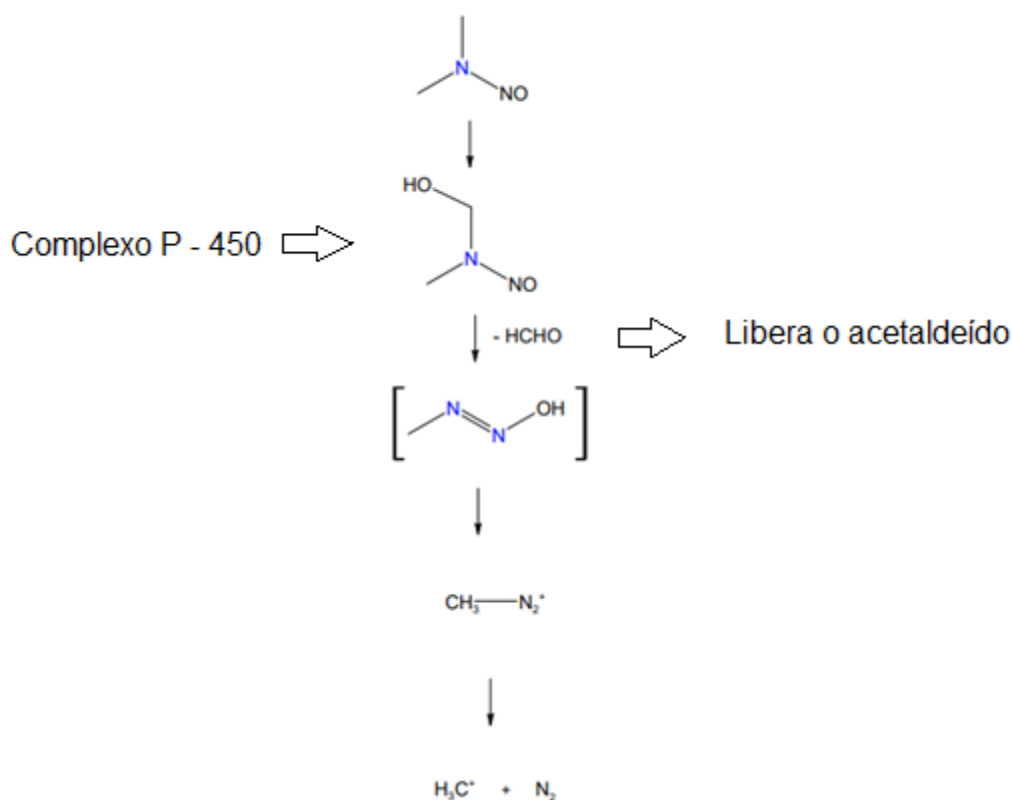
### 4.3. Avaliação para presença de impurezas genotóxicas

A aba “Av. Impurezas Genotóxicas” tem como objetivo auxiliar o operador na atividade de comparação entre as estruturas dos componentes químicos utilizados na rota sintética e as estruturas de alerta, propostas por Müller (2006). Também é considerada a possibilidade de carregamento de alguns compostos químicos, conhecidamente genotóxicos, por meio do contato destes com o IFA a partir da exposição a solventes contaminados. Esta segunda avaliação é

realizada na aba “Avaliação Final” onde são apresentados alguns dos contaminantes que possuem seus limites de exposição determinados pelo Guia ICH M7(2017).

As estruturas de alerta anteriormente apresentadas (Quadro 1, p. 6; Quadro 2, p. 7 e Quadro 3, p. 7) são classificadas como tal devido a sua capacidade em reagir dentro das células e produzir eletrofilófilos, espécies deficientes em elétrons, capazes de se ligar de forma irreversível ao DNA e provocar danos muitas vezes incapazes de serem reparados por mecanismos naturais. Um exemplo é a hidroxilação da nitrosaminas, como ilustrado na Figura 22.

Figura 22. Hidroxilação de nitrosaminas mediada pelo sistema P-450



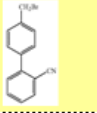
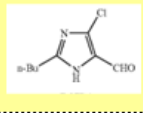
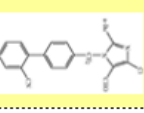
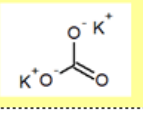
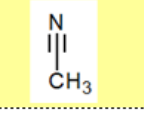
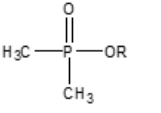
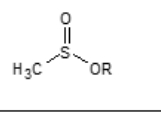
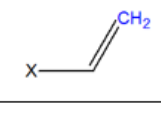
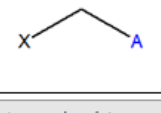
Fonte: Adaptado ANVISA<sub>[b]</sub> (2021).

Por meio dessa e outras pesquisas o ICH no GUIA ICH M7(2017) determinou que tais substâncias devam ser, inicialmente, pesquisadas por uma avaliação de risco e métodos Q(SAR), do inglês, *quantitative structure-activity*. Tal avaliação relaciona a estrutura da molécula analisada com a mutagenicidade e carcinogenicidade, a partir de modelos estatísticos e matemáticos que correlacionam tais fatores à presença da estrutura de alerta em determinados compostos (ALVES *et al*, 2018).

Caso a análise de risco apresente resultado positivo para possível presença de impurezas genotóxicas, testes de bancada como identificação e quantificação de tais compostos, bem como testes de mutagenicidade bacteriana, devem ser realizados.

Dessa forma a avaliação qualitativa é executada por meio comparativo entre componentes de síntese e estruturas de alerta sinalizadas por Müller (2006), que contempla o trabalho de Ashby (1988), como apresentado na Figura 23.

Figura 23. Demonstrativo da execução de comparação entre estrutura de alerta e estruturas de componentes da síntese

















Estruturas de Alerta		Reagente 1	Reagente 2	Reagente 3	Reagente 4	Reagente 5
REAGENTE	Existe Similaridade entre as estruturas?					
	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
	SIM	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO

Fonte: Próprio, 2021.

Na Figura 23 é possível observar similaridade entre o material de partida da síntese (Bromo OTBN 3) e a estrutura de alerta, caracterizada pela presença de um grupamento arila ligado a um haleto de alquila. Dessa forma a planilha irá retornar um valor de “Detectada estrutura de alerta, necessária pesquisa de mutagenicidade/carcinogenicidade”. Assim será necessária a realização dos próximos passos indicados no guia (ANEXO, p. 35) para determinar se a impureza realmente tem potencial mutagênico/carcinogênico e quais limites podem ser estabelecidos para a presença destes no IFA.

Outra avaliação comparativa é realizada quando é questionado sobre a presença das substâncias, conhecidamente genotóxicas (Classe 1 e Classe 2), limitadas pelo Guia M7(2017) (Figura 24, p. 28).

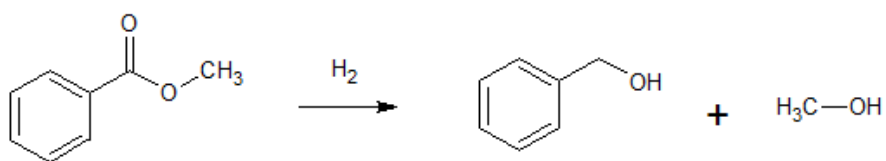
Figura 24. Substâncias controladas no Guia ICH M7 e questionário de avaliação de risco

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
3											
4			Benzeno	Cloreto de benzilo	1-Cloro-4-nitrobenzeno	2-Metoxi-5-metil-anilina	p-Cloroanilina	Anilina ou Cloreto de anilinium			Cloreto de dimetilcarbamólio
5											
6											
7			Bis (clorometil) éter	Cloreto de etila	Sulfato de dimetilo	Acrlonitrila	2,3-Epoxy-1-propanol	Peroxido de Hidrogenio	Clorometano		Hidrazina
8											
9	<b>Questionário de avaliação</b>										
10	1	Alguma das substâncias químicas apresentadas anteriormente estão (podem estar) presentes na rota sintética ( como participantes efetivos da síntese ou como impurezas dos reagentes, solventes ou catalisadores)?									NÃO
11	2	É utilizado metanol na rota sintética?									NÃO
12	3	Na rota é utilizado gasolina, diesel ou xileno?									NÃO
13	4	Finalizada as etapas de síntese o IFA passa por alguma exposição a radiação UV?									NÃO
14	5	Presença de amina ou amida (secundária/ terciária)?									NÃO
15	6	pH da(s) etapa(s) crítica da síntese:									3 ≤ pH ≤ 4
16	7	Uso de ácido nítrico ou nítrico?									NÃO
17	8	O IFA é embalado em nitrocelulose?									NÃO
18	9	Água de processo pode conter nitrosaminas?									NÃO
19											
20											
21	<b>Resposta de Risco Associado</b>										
22											
23	RISCO	Nitrosaminas		<b>Risco de presença de nitrosamina</b>							
24		Imp. Genotóxicas		<b>Detectada estrutura de alerta, necessária pesquisa de mutagenicidade/carcinogenicidade</b>							
25											
			Estruturas da síntese		Av. Impurezas Genotóxicas		Av. Nitrosaminas		<b>Avaliação Final</b>		

Fonte: Próprio, 2021.

As perguntas de 1 a 3 estão relacionadas a avaliação de substâncias genotóxicas. A segunda e a terceira estão ligadas a solventes que costumam apresentar contaminantes como benzeno, tolueno e/ou xileno (INCA, 2017). Gasolina e diesel são compostos orgânicos obtidos de fontes não renováveis, pela destilação do petróleo, e muitas vezes podem carrear substâncias aromáticas como o benzeno, tolueno, xileno entre outros. Tais compostos são majoritariamente utilizados como combustíveis, mas podem também ser usados como solventes em síntese o que pode carrear impurezas para o IFA. Já o metanol pode ser obtido por outros meios como hidrogenação do dióxido de carbono ou outros compostos orgânicos (WINCK, 2021). Um exemplo é a hidrogenação do benzoato de metila (Figura 25, p. 28). Os produtos obtidos foram metanol e álcool benzílico, mas em condições de hidrogenação a reação poderia dar continuidade e formar produtos indesejados como, por exemplo, tolueno ou benzeno. Dessa forma a utilização desses solventes deve ser avaliada quanto ao carregamento de impurezas genotóxicas.

Figura 25. Reação de obtenção de metanol por meio de hidrogenação



Fonte: Adaptado de WINCK, 2021.

A planilha retorna valor de “Detectada estrutura de alerta, necessária pesquisa de mutagenicidade/carcinogenicidade” quando similaridades entre composto e estrutura de alerta são identificadas, como ocorreu para a losartana (Figura 23, p. 27), e valor de “Possível presença de impureza genotóxica limitada pelo ICH” quando identificado na rota um dos reagentes controlados pelo Guia ICH M7, ou na rota é utilizado algum dos solventes supracitados.

## 5 CONCLUSÃO

O presente trabalho foi construído por meio de pesquisa bibliográfica utilizando informações importantes sobre as condições de formação de nitrosaminas, seus mecanismos reacionais, estruturas de alerta comumente presentes em impurezas genotóxicas e substâncias que, por seu potencial mutagênico/carcinogênico, são controladas pelo ICH. Todas essas informações foram compiladas em uma planilha no software Excel.

A planilha foi obtida e cumpre o proposto, uma vez que sua utilização pode auxiliar o analista na avaliação de risco qualitativo da formação de nitrosaminas e na identificação da presença de outras possíveis impurezas genotóxicas.

Se não forem detectadas estruturas de alerta e o risco de formação de nitrosamina na síntese for negligenciável, os controles das impurezas e solventes podem ser realizados seguindo os guias do ICH Q3A e Q3B para controle de impurezas em novos IFAs e ICH Q3C para controle de solventes residuais.

Caso a planilha identifique alguma estrutura de alerta pesquisas bibliográficas adicionais, para identificação de um possível potencial genotóxico, podem fazer-se necessárias. Em circunstâncias onde o composto não tenha sido descrito anteriormente, os passos determinados no guia ICH M7 devem ser seguidos e testes de específicos devem ser desenvolvidos para avaliar o potencial de mutagênese e a existência de capacidade carcinogênica associada a tal substância.

Considerando os pontos anteriormente citados a necessidade ou não de controle dessas substâncias por meios experimentais se torna mais simples de ser evidenciado, gerando uma economia financeira e de tempo para o setor industrial farmacêutico brasileiro.

## REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). CARTILHA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Brasília. 29 de agosto de 2002. Disponível em: [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cartilha\\_vigilancia.pdf](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cartilha_vigilancia.pdf) . Acesso em: 7 out. 2021.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Guia sobre o Controle de Nitrosaminas em Insumos Farmacêuticos Ativos e Medicamentos. 29 de jun.2021. 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: 11 out. 2021.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA<sub>[a]</sub>). Perguntas e Respostas - qualificação de impurezas. 18 jul. 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/medicamentos/publicacoes-sobre-medicamentos/perguntas-e-respostas-qualificacao-de-impurezas.pdf/view>. Acesso em: 27 set. 2021.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA<sub>[b]</sub>). RESOLUÇÃO-RDC Nº 283, DE 17 DE MAIO DE 2019. Dispõe sobre investigação, controle e eliminação de nitrosaminas potencialmente carcinogênicas em antagonistas de receptor de angiotensina II. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-rdc-n-283-de-17-de-maio-de-2019-118357341>. Acesso em: 11 out. 2021.

ALVES, V. M.; BRAGA, R. C.; MURATOV, E. N.; ANDRADE, C. H. QUIMIOINFORMÁTICA: UMA INTRODUÇÃO. **Química Nova**, v. 41, p. 202-212, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170145>. Acesso em: 22 nov. 2021.

ASHBY, J.; TENNANT, R. W. Chemical structure, Salmonella mutagenicity and extent of carcinogenicity as indicators of genotoxic carcinogenesis among 222 chemicals tested in rodents by the US NCI/NTP. **Mutation Research/Genetic Toxicology**, v. 204, n. 1, p. 17-115, 1988. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(88\)90114-0](https://doi.org/10.1016/0165-1218(88)90114-0). Acesso em: 22 nov. 2021.

CHALLIS, B. C. *et al.* Reduction of nitrosamines in cosmetic products. **International journal of cosmetic science**, v. 17, n. 3, p. 119-131, 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1467-2494.1995.tb00115.x>. Acesso em: 21 nov. 2021.

CHEESEMAN, M. A.; MACHUGA, E. J.; BAILEY, A. B. A tiered approach to threshold of regulation. **Food and Chemical Toxicology**, v. 37, n. 4, p. 387-412, 1999. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(99\)00024-1](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(99)00024-1). Acesso em: 20 out. 2021.

Coordenação de Registro de Insumos Farmacêuticos Ativos (COIFA). 3.2.S.2.2 - Descrição do Processo de Fabricação e dos Controles em Processo. 2021. Disponível em: <https://coifa.anvisa.gov.br/guia/3.2.S.2.2.html>. Acesso em: 03 out. 2021.

Diretor-Presidente da ANVISA. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-283-de-17-de-maio-de-2019-118357341>. Acesso em: 20 out. 2021.



DOUGLASS, M. L. *et al.* The chemistry of nitrosamine formation, inhibition and destruction. **J. SOC. COSMET. CHEMISTS. USA. DA.** v. 29. n 9. p. 581-606, 1978; BIBL. 126 REF. Disponível em: <https://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=PASCAL7960196014>. Acesso em: 11 nov. 2021.

European Medicines Agency (EMA<sub>[a]</sub>). History of EMA. 2019. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/about-us/history-ema>. Acesso em: 03 out. 2021.

European Medicines Agency (EMA<sub>[b]</sub>). Information on nitrosamines for marketing authorisation holders. Sept, 2019. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/nitrosamines-emea-h-a53-1490-information-nitrosamines-marketing-authorisation-holders-obsolete\\_.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/nitrosamines-emea-h-a53-1490-information-nitrosamines-marketing-authorisation-holders-obsolete_.pdf). Acesso em: 20 out. 2021.

Food and Drug Administration (FDA). "Information about Nitrosamine Impurities in Medications.". 2020. Disponível em: <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/information-about-nitrosamine-impurities-medications>. Acesso em: 11 out. 2021.

Food and Drug Administration. (FDA). FDA History. marc. 2018. FDA. Disponível em: <https://www.fda.gov/about-fda/fda-history>. Acesso em: 03 out. 2021.

Food and Drug Administration. (FDA). Information about Nitrosamine Impurities in Medications. 2021. Disponível em: <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/information-about-nitrosamine-impurities-medications#nitrosamine-impurities>. Acesso em: 21 nov. 2021.

FREITAS, J. J. R. *et al.* Rearranjos de Claisen mais Usados em Síntese Orgânica: Uma Revisão. Rev. **Virtual Quim**, v. 9, n. 4, p. 1597-1657, 2017. Disponível em: <http://static.sites.sbq.org.br/rvq.sbq.org.br/pdf/v9n4a14.pdf>. Acesso em: 7 out. 2021.

GROTTI, D. A. M. As agências reguladoras. **Revista Eletrônica de Direito Administrativo Econômico**, v. 6, 2006. Disponível em: [https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/1888455/mod\\_resource/content/1/Dinor%C3%A1%20Grotti%202004.pdf](https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/1888455/mod_resource/content/1/Dinor%C3%A1%20Grotti%202004.pdf). Acesso em: 03 out. 2021.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (Brasil). Exposição à Radiação. INCA, 2021. <https://www.inca.gov.br/causas-e-prevencao/prevencao-e-fatores-de-risco/exposicao-a-radiacao>. Acesso em: 04 nov. 2021.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (Brasil). O que é câncer?. INCA, 2019. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>. Acesso em: 27 set. 2021.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (Brasil). Você Sabe O Que Tem No Combustível?. INCA, 2017. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//cartilha-voce-sabe-oque-tem-combustivel-2017.pdf>. Acesso em: 21 nov. 2021.

International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). Avaliação E controle de impurezas reativas ao DNA (Mutagênicas) em

produtos farmacêuticos para limitar o risco carcinogênico em potencial M7(R1). 2017. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/acessoainformacao/institucional/relacoes-internacionais/convergencia-regulatoria/arquivos/1561json-file-1>. Acesso em: 7 out. 2021.

International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). Gestão do risco à qualidade Q9. Nov. 2005. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/documents/33788/6001352/Guia+ICH+Q9-Rev.pdf/1083dada-acff-4c52-943b-b23a7f195ac8?version=1.0>. Acesso em: 20 out. 2021.

International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). IMPUREZAS EM NOVAS SUBSTÂNCIAS MEDICAMENTOSAS Q3A(R2). 2006. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/acessoainformacao/institucional/relacoes-internacionais/convergencia-regulatoria/arquivos/1556json-file-1>. Acesso em: 7 out. 2021.

International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). Impurities in new drug products Q3B(R2). 2006. Disponível em: <https://database.ich.org/sites/default/files/Q3B%28R2%29%20Guideline.pdf>. Acesso em: 7 out. 2021.

International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). Overview of ICH. Jun.2021. Disponível em: <https://www.ich.org/page/history>. Acesso em: 27 set. 2021.

LOEPPKY, R. N. Nitrosamine and N-nitroso compound chemistry and biochemistry: advances and perspectives. 1994. DOI: 10.1021/bk-1994-0553.ch001. Acesso em: 02 dez. 2021.

LÓPEZ-RODRÍGUEZ, R. *et al.* Pathways for N-nitroso compound formation: Secondary amines and beyond. **Organic Process Research & Development**, v. 24, n. 9, p. 1558-1585, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.0c00323>. Acesso em: 18 nov. 2021.

MÜLLER, L. *et al.* A rationale for determining, testing, and controlling specific impurities in pharmaceuticals that possess potential for genotoxicity. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 44, n. 3, p. 198-211, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2005.12.001> Acesso em: 20 out. 2021.

NANDA, K. K. *et al.* Inhibition of N-Nitrosamine Formation in Drug Products: A Model Study. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2021.08.010>. Acesso em: 18 nov. 2021.

PEDREIRO, Estela Sílvia Duarte. Análise in silico de impurezas provenientes da síntese de fármacos: pesquisa de estruturas de alerta de genotoxicidade, mutagenicidade e carcinogenicidade. 2016. Tese de Doutorado. Disponível em: <https://estudogeral.sib.uc.pt/bitstream/10316/40729/1/Estela%20Pedreiro.pdf>. Acesso em: 12 out. 2021.

RAHMAN, M. M.; TOLLEFSBOL, T. O. Targeting cancer epigenetics with CRISPR-dCAS9: Principles and prospects. **Methods**, v. 187, p. 77-91, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2020.04.006>. Acesso em: 27 set. 2021.

RATH, S.; CANAES, L. S. Contaminação de produtos de higiene e cosméticos por N-Nitrosaminas. **Química Nova**, v. 32, p. 2159-2168, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000800030>. Acesso em: 11 nov. 2021.

REDDY, Arava Veera *et al.* Process for the Preparation of Losartan. Assignee: Suven Life Sciences Limited. U.S. Patent n. 7,915,425, 29 mar. 2011. Disponível em: <https://patents.google.com/patent/US7915425B2/en>. Acesso em: 21 nov. 2021.

RITCHIE, H.; ROSER, M. Causes of death. **Our world in data**, 2018. Disponível em: '<https://ourworldindata.org/causes-of-death>'. Acesso em: 30 out. 2021.

ROBINSON, D. I. Control of genotoxic impurities in active pharmaceutical ingredients: a review and perspective. **Organic Process Research & Development**, v. 14, n. 4, p. 946-959, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1021/op900341a>. Acesso em: 27 set. 2021.

RODRIGUES, R. LB *et al.* Predição de toxicidade dos estabilizantes usuais em propelentes à base de nitrocelulose e de seus principais produtos de degradação. **Química Nova**, v. 41, p. 867-873, 2018. DOI <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170264>. Acesso em: 30 nov. 2021.

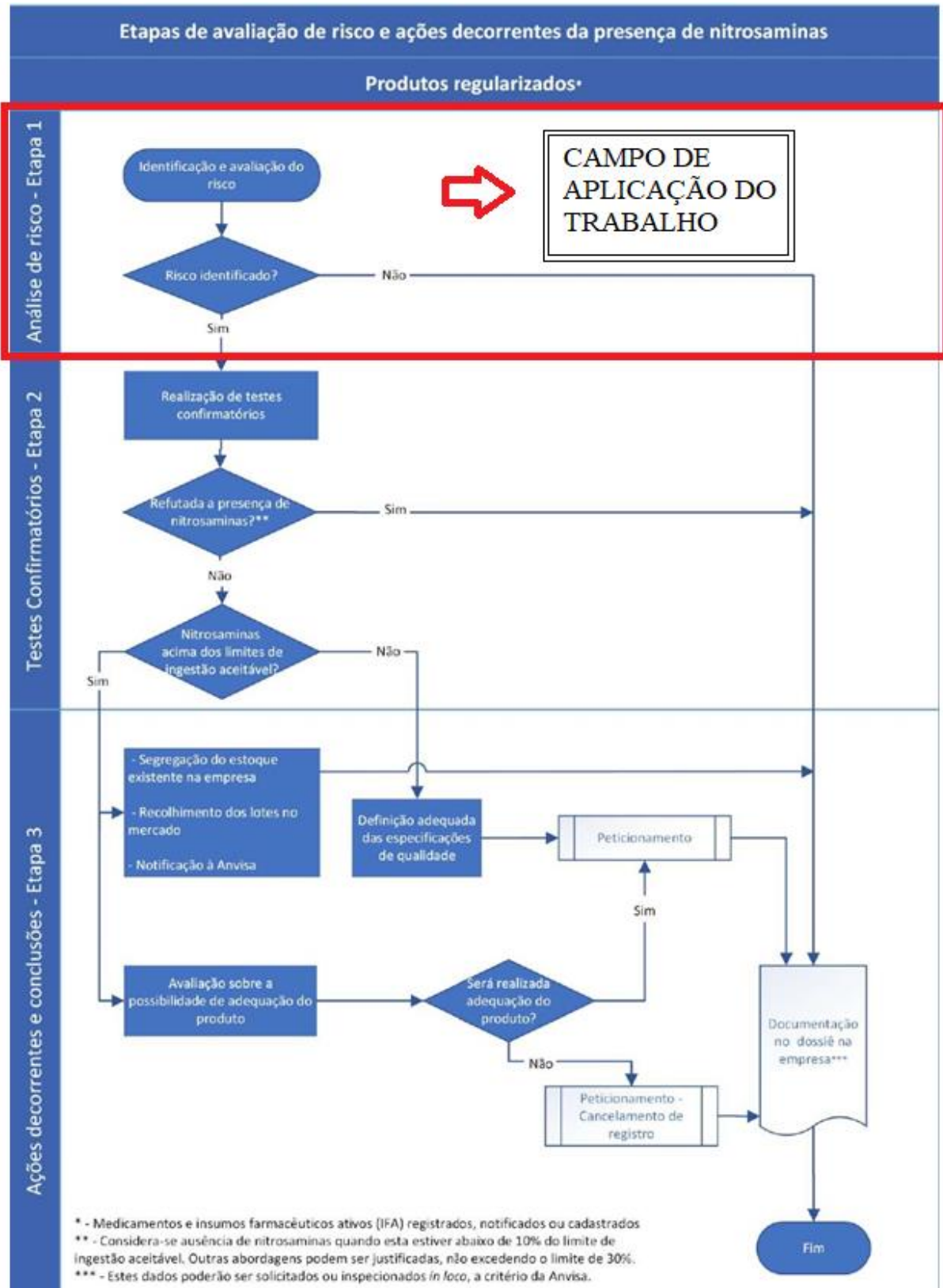
SANGI, D. P. Estratégias de síntese na descoberta de fármacos: o emprego da síntese orientada pela diversidade estrutural. **Química nova**, v. 39, p. 995-1006, 2016. DOI <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20160089>. Acesso em: 7 out. 2021.

WINCK, P. L. Revisão bibliográfica sobre a reação de hidrogenação do CO<sub>2</sub> para a obtenção de metanol. 2021. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/222732>. Acesso em: 21 nov. 2021.

World Health Organization (WHO). DEFINITION OF ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENT. 2011. Disponível em: [https://www.who.int/medicines/areas/quality\\_safety/quality\\_assurance/DefinitionAPI-QAS11-426Rev1-08082011.pdf](https://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/DefinitionAPI-QAS11-426Rev1-08082011.pdf). Acesso em: 03 out. 2021.

World Health Organization (WHO). History of WHO. 2021. Disponível em: <https://www.who.int/about/who-we-are/history>. Acesso em: 03 out. 2021.

ANEXO



Fonte: Adaptado de ANVISA, 2021.