

**FARMANGUINHOS
INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM FÁRMACOS
CURSO EM TECNOLOGIAS INDUSTRIAIS FARMACÊUTICAS**

MARCELA SAMPAIO SILVA FERRAZ

**ESTUDO TEÓRICO DA RELAÇÃO ENSAIOS DE DEGRADAÇÃO FORÇADA E
ESTUDO DE ESTABILIDADE DE FÁRMACOS E MEDICAMENTOS**

**RIO DE JANEIRO
2016**

MARCELA SAMPAIO SILVA FERRAZ

**ESTUDO TEÓRICO DA RELAÇÃO ENSAIOS DE DEGRADAÇÃO FORÇADA E
ESTUDO DE ESTABILIDADE DE FÁRMACOS E MEDICAMENTOS**

Monografia apresentada pela acadêmica Marcela Sampaio Silva Ferraz como exigência do curso de Pós-graduação em Tecnologia Industriais Farmacêuticas de Farmanguinhos – Instituto de Tecnologia em Fármacos sob a orientação da Esp. Eliane dos Santos Machado

**RIO DE JANEIRO
2016**

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Medicamentos e Fitomedicamentos/ Farmanguinhos / FIOCRUZ - RJ

F368e Ferraz, Marcela Sampaio Silva

Estudo teórico da relação ensaios de degradação forçada e estudo de estabilidade de fármacos e medicamentos. / Marcela Sampaio Silva Ferraz. – Rio de Janeiro, 2015.

x, 49f. il : 30 cm.

Orientador: Eliane dos Santos Machado

Monografia (especialização) – Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Pós-graduação em Tecnologias Industriais Farmacêuticas, 2015.

Bibliografia: f. 45-49

1. Produtos de degradação. 2. Teste de estresse. 3. Estabilidade.
4. Medicamentos. 5. Título.

CDD 615.1

MARCELA SAMPAIO SILVA FERAZ

**ESTUDO TEÓRICO DA RELAÇÃO ENSAIOS DE DEGRADAÇÃO FORÇADA E
ESTUDO DE ESTABILIDADE DE FÁRMACOS E MEDICAMENTOS**

Orientadora: Esp. Eliane dos Santos Machado

BANCA EXAMINADORA

Marcelo Henrique da Cunha Chaves
Mestre em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica

Leandro Vinícius Soares de Oliveira
Mestre em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica

AGRADECIMENTOS

À Deus, acima de tudo por todas as conquistas alcançadas em minha vida.

À minha mãe por todo o esforço e dedicação na minha educação, pelo imenso amor e apoio.

Aos meus tios e primos, que me incentivaram e estiveram sempre ao meu lado.

Ao meu esposo pelo incentivo e paciência durante esse tempo.

À minha orientadora Eliane dos Santos Machado por seu apoio, dedicação e paciência no desenvolvimento e conclusão desta monografia.

Um agradecimento todo especial a Valentina que aguentou cada momento de ausência da mamãe na conclusão desta monografia para ser finalmente apresentada.

RESUMO

O estudo de produtos de degradação é uma exigência prevista pela resolução RE nº01/05 Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que descreve o estudo de estabilidade de fármacos e medicamentos. Na tentativa de esclarecer e delinear a forma de realizar o estudo de produtos de degradação, a ANVISA lançou o Informe técnico nº1/2008 que não ficou muito tempo em vigor devido ao fato de tentar definir, ao máximo, critérios e condições para um estudo que é altamente variável, de acordo com a molécula a ser estudada. Por meio de uma revisão bibliográfica foi demonstrado as diversas pesquisas que delineiam os estudos de produtos de degradação juntamente com o que é exigido em normas internacionais tal como ICH (*Internacional Conference on Harmonization*) além de discutir e interpretar a Consulta Pública nº11 publicada pela ANVISA em que era para normatizar esse tipo de estudo no país além de ser mais uma forma de garantir a vigilância sanitária dos medicamentos no Brasil. Atualmente, a ANVISA já publicou a RDC 58 em 23 de dezembro de 2013, que dentro de 2 anos sua vigência será válida, portanto este será um guia de como conduzir os estudos de estresse de fármacos e medicamentos que são exigidos pela ANVISA.

Palavras-chave: Produtos de degradação. Teste de estresse. Estabilidade. Medicamentos.

ABSTRACT

The study of degradation products was a requirement set by the resolution N° 01/05 ANVISA which describes the stability study for drugs and medicines. In an attempt to clarify and delineate how to perform the study of degradation products, ANVISA launched the Data Sheet N° 1/2008 which was not long in force due to the fact of trying to define at maximum, criteria and conditions for a study which is highly variable, according to the molecule to be studied. Through a literature review demonstrated the various research studies that delineate the degradation products along with what is required in international standards such as ICH (International Conference on Harmonization) plus discuss and interpret the Public Consultation N° 11 published by ANVISA in 2012 which will regulate this type of study in the country and that will be one more way to ensure the health surveillance of drugs in Brazil.

Currently, ANVISA has published 58 in DRC December 23, 2013, that within two years its duration will be valid, so this will be a guide on how to conduct the studies stress of drugs and medicines that are required by ANVISA.

Key-words: Degradation products. Stress testing. Stability. Pharmaceuticals drugs.

SUMÁRIO

RESUMO	iv
ABSTRACT	v
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
1. INTRODUÇÃO	11
2. JUSTIFICATIVA	13
3. OBJETIVO	14
4. REFERENCIAL TEÓRICO	15
4.1. ESTUDO DE ESTABILIDADE E PRODUTO DE DEGRADAÇÃO	15
4.1.1. <i>Definição</i>	15
4.1.2. <i>Tipos de estudo de estabilidade</i>	16
4.1.3. <i>A qualidade no desenvolvimento de medicamentos</i>	17
4.1.4. <i>Consulta pública nº11 de 23 de janeiro de 2012 Resolução 58/2013</i>	18
4.2. ESTUDO DE DEGRADAÇÃO FORÇADA OU TESTE DE ESTRESSE	19
4.3. IMPUREZAS	20
4.3.1. <i>Classificação de impurezas</i>	21
4.3.2. <i>Classificação USP</i>	21
4.3.2.1 <i>Substâncias extrínsecas</i>	21
4.3.2.2 <i>Impurezas tóxicas</i>	21
4.3.2.3 <i>Componentes concomitantes</i>	21
4.3.2.4 <i>Impurezas ordinárias</i>	21
4.3.2.5 <i>Impurezas sinalizadoras</i>	21
4.3.3 <i>Classificação ICH</i>	22
4.3.3.1 <i>Impurezas orgânicas</i>	22
4.3.3.2 <i>Impurezas inorgânicas</i>	22
4.3.3.3 <i>Solventes residuais</i>	22
4.3.3.4 <i>Impurezas relacionadas à síntese</i>	22
4.3.3.5 <i>Materiais de partida à síntese</i>	22
4.3.3.6 <i>Reagentes, ligantes e catalisadores</i>	23
4.3.3.7 <i>Subprodutos de síntese</i>	23
4.3.3.8 <i>Impurezas de solventes</i>	24
4.3.3.9 <i>Impurezas relacionadas à formulação</i>	24
4.3.3.10 <i>Impurezas relacionadas à degradação</i>	24
4.3.4 <i>Degradação Física</i>	25
4.3.5 <i>Degradação Química</i>	25
4.4. PRODUTO DE DEGRADAÇÃO	26
4.4.1. <i>Realização dos estudos de degradação forçada</i>	26
4.4.2. <i>Ensaio para o teste de degradação forçada</i>	30
4.4.2.1 <i>Termólise</i>	30
4.4.2.2 <i>Umidade</i>	31

4.4.2.3 Hidrólise ácida ou básica.....	31
4.4.2.4 Oxidação.....	32
4.4.2.5 Íons metálicos.....	33
4.4.2.6 Fotólise.....	33
4.5. MÉTODO INDICATIVO DE ESTABILIDADE.....	35
4.5.1. Desenvolvimento de MIE e sua importância.....	35
4.5.2. Balanço de massa.....	36
5. ASPECTOS REGULATÓRIOS.....	36
5.1. ICH.....	36
5.2. EMEA.....	41
5.3. FDA.....	42
5.4. ANVISA.....	43
6. CONCLUSÃO.....	44
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45

LISTA ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária

RE Resolução

ICH International Conference on Harmonization

RDC Resolução da Diretoria Colegiada

TDI Ingestão Total Diária

EMA European Medicines Agency

USP The United States Pharmacopeia

BP British Pharmacopoeia

FDA Food and Drug Administration

MIE Método indicativo de estabilidade

EDP Exposição diária permitida

LIT limite de interesse toxicológico

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Divisões da zonas climáticas.....	16
Tabela 2 - Condições de estresse definidas pelo IT 01/2008 para estudo de degradação forçada.....	20
Tabela 3 - Estudo de estresse segundo Brummer.....	27
Tabela 4 - Recomendação para estudo de degradação forçada.....	28
Tabela 5 – Recomendação do guia Q3A(R2) sobre o registro das impurezas encontradas no fármaco..	37
Tabela 6 - Limites de notificação, identificação e qualificação para medicamentos	39

LISTA DE FIGURAS

Figura1 - Estrutura dos antibióticos beta-lactâmicos (Williams, 1999).....	23
Figura 2: Fluxograma do estudo de estresse: Oxidação (Fonte: Adaptado de: Singh & Bakshi, 2000).....	33
Figura 3: Fluxograma do estudo de estresse: Fotólise (Fonte: Adaptado de: Singh & Bakshi, 2000).....	34

1 INTRODUÇÃO

A estabilidade é um importante parâmetro para avaliar a qualidade, segurança e eficácia exigida para o registro sanitário de produtos farmacêuticos, sendo esses requisitos essenciais para o sucesso de um tratamento. É definida como o tempo durante o qual a especialidade farmacêutica e a matéria prima considerada isoladamente, mantém-se dentro dos limites especificados, as mesmas condições e características que possuía quando da época de sua fabricação. Pode também ser definida como o período de tempo compreendido entre o momento no qual o produto está sendo fabricado àquela que sua potência está reduzida a não mais do que 10%, desde que os produtos de alteração estejam todos seguramente identificados e previamente reconhecidos seus efeitos (Taborianski, 2003; Vehabovic *et al.*, 2003; Stulzer & Silva, 2006).

Os produtos de degradação são impurezas resultantes da degradação do princípio ativo ou excipientes de uma formulação e podem surgir com armazenamento do medicamento, diante de situações de estresse sendo resultantes de efeitos da exposição à luz, temperatura, pH, umidade e transporte. Podem também ser originados das características inerentes ao fármaco em contato com os excipientes, ou devido ao contato com a embalagem primária, podendo assim resultar na ineficácia terapêutica do fármaco (Brasil, 2010)

A Resolução-RE nº1/05 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) determina que o estudo de estabilidade de fármacos e medicamentos deve contemplar a quantificação de produtos de degradação assim como o método analítico correspondente (Brasil, 2005).

Por outro lado, é importante considerar que os estudos de degradação forçada são ferramentas úteis para um maior entendimento sobre a substância ativa (estabilidade intrínseca) e desta forma, pode ser utilizada como parte do estudo de pré-formulação de medicamentos, pois, à partir das informações prévias sobre o comportamento químico do fármaco, pode se escolher os excipientes, processo de fabricação e material de embalagem adequados (Kazakevich; Lobrutto, 2007).

A realização do teste de estresse, assim como o desenvolvimento do método analítico para a identificação e quantificação dos produtos de degradação é de extrema importância para as indústrias farmacêuticas, pois no momento do registro, pós registro e renovação, o estudo de degradação forçada, acompanhado da sua análise crítica deverá ser contemplada (Silva *et al.*, 2009).

Tais estudos, além da determinação da estabilidade intrínseca da molécula, podem também auxiliar na identificação de produtos de degradação, estabelecer suas rotas de formação e validar metodologias analíticas indicadoras de estabilidade, sendo portanto, um trabalho de

fundamental importância na pré-formulação, inclusive para o desenvolvimento de medicamentos genéricos e similares (ICH, 2003).

A fim de normatizar tais estudos no país, no final de 2013 foi publicada pela ANVISA uma resolução que estabelece parâmetros para a notificação, identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos com substâncias ativas sintéticas e semissintéticas, classificados como novos, genéricos e similares, e das outras providências. Esta Resolução se aplica aos registros de medicamentos (ou inclusão de nova concentração ou nova forma farmacêutica) bem como à renovação de registro e às alterações pós-registro de medicamentos. Ela entrará em vigor em 2 anos após sua publicação. Os medicamentos já registrados devem se adequar na primeira renovação de registro protocolada a partir da vigência dessa resolução, ou seja, a partir de 23 de dezembro de 2015 (Brasil, 2013).

A necessidade de se mostrar a qualidade das análises físico-químicas está sendo cada vez mais reconhecida e exigida, pois dados analíticos não confiáveis podem conduzir a decisões desastrosas e a prejuízos financeiros irreversíveis. Para garantir que um método analítico gere informações confiáveis e corretamente interpretáveis sobre a amostra testada, ele deve sofrer um processo de validação. Uma vez validado, o método garantirá por meio de aplicações experimentais, que o método atende as exigências analíticas e assegura a confiabilidade dos resultados.

2 JUSTIFICATIVA

Poucos estudos relacionados à avaliação das impurezas em compostos farmacêuticos eram discutidos na literatura científica. Várias eram as razões para esta falta. Vários termos tais como subprodutos, os produtos de degradação, os produtos da interação e produtos relacionados são usados frequentemente pelos compêndios oficiais para classificar as impurezas.

Fez-se necessário, portanto, incorporar testes estritos para controlar as impurezas oriundas de diversas fontes já descritas. Este fato é evidente a partir de vários requerimentos das farmacopéias, ANVISA e dos órgãos regulatórios internacionais para o controle específico das impurezas.

Recentemente, a ANVISA publicou uma resolução visando melhor assegurar a qualidade dos medicamentos, permitindo um controle e análise racional da questão, desde o desenvolvimento de um novo fármaco até um produto acabado.

3 OBJETIVO

Avaliar a importância da realização e aplicabilidade dos estudos de estabilidade juntamente com os testes de degradação forçada como forma de garantir a qualidade, segurança e eficácia do medicamento e, dessa forma, atender aos requisitos exigidos pelos órgãos competentes, a partir de revisão bibliográfica.

4. REFERENCIAL TEÓRICO

4.1. Estudo de Estabilidade

4.1.1. Definição

Estabilidade é a capacidade de uma formulação de manter as especificações físicas, químicas, microbiológicas, terapêuticas e toxicológicas. O monitoramento da estabilidade de medicamentos é um dos métodos mais eficazes para avaliação, previsão e prevenção de problemas relacionados à qualidade do produto durante seu tempo de validade. A segurança e a eficácia também podem ser avaliadas por estudos de estabilidade, pelo monitoramento da formação de produtos de degradação, que podem gerar perda de atividade terapêutica ou toxicidade (Carvalho *et al.*, 2005).

Estas etapas são realizadas para reduzir ou prevenir a ocorrência de degradação devido à hidrólise, oxidação, entre outros processos.

A estabilidade de um medicamento depende não só de fatores ambientais, mas também de fatores relacionados com a formulação. Dos fatores que influenciam na estabilidade citamos:

- Atividade dos princípios ativos.
- Interação dos componentes ativos com os excipientes.
- Concentração, forma farmacêutica, potencial de interação entre o fármaco e a embalagem.
- Tempo de fabricação e o uso.
- Processo de fabricação, a forma posológica, o tipo de acondicionamento.
- Presença de revestimento, condições ambientais durante a manipulação, no processo e pelo paciente.
- Armazenagem e transporte.

Com a finalidade de prever o prazo de validade do medicamento nos diferentes climas, o mundo foi subdividido em zonas climáticas com diferentes especificações de temperatura e umidade a fim de possibilitar a comercialização de produtos em diferentes zonas climáticas (Carvalho *et al.*, 2005).

Para o procedimento dos ensaios de estabilidade realizados no Brasil, de zona climática IV, as indústrias farmacêuticas seguem a RE nº 1/2005 da ANVISA que define três estudos: acelerado, longa duração e acompanhamento.

Tabela 1 – Divisões da zonas climáticas

Zonas climáticas	Definição	Temperatura cinética média	Umidade relativa (%)
I	Clima temperado	21	45
II	Clima subtropical e mediterrâneo	25	60
III	Clima quente e seco	30	35
IV-A	Clima quente e úmido	30	65
IV-B	Clima quente e muito úmido	30	75

Fonte: Anvisa, 2005

4.1.2. Tipos de estudo de estabilidade

Estudo de Estabilidade Acelerada: Estudo projetado para acelerar a degradação química e/ou mudanças físicas de um produto farmacêutico em condições forçadas de armazenamento. Os dados obtidos, juntamente com aqueles derivados dos estudos de longa duração, são usados para avaliar efeitos químicos e físicos prolongados em condições não aceleradas e para avaliar o impacto de curtas exposições a condições fora daquelas estabelecidas no rótulo do produto, que podem ocorrer durante o transporte (RDC nº 45/2012 da ANVISA).

Estudo de Estabilidade de Longa Duração: Estudo projetado para verificação das características físicas, químicas, biológicas e microbiológicas de um produto farmacêutico durante e, opcionalmente, depois do prazo de validade esperado. Os resultados são usados para estabelecer ou confirmar o prazo de validade e recomendar as condições de armazenamento. (RDC nº 45/2012 da ANVISA).

Estudo de Estabilidade de Acompanhamento: Estudo realizado para verificar se o produto farmacêutico mantém suas características físicas, químicas, biológicas, e microbiológicas conforme os resultados obtidos nos estudos de estabilidade de longa duração.

Esses estudos são realizados em câmaras climáticas qualificadas de acordo com normas internacionais, que proporcionam o controle de temperatura e umidade em seu interior, projetados para serem utilizados continuamente, sem preocupação com falhas nos instrumentos de controle conforme mostram nossos estudos (Nunes *et al.*, 2007).

Quando se tratar de desenvolvimento de produto e obtenção de novo registro devem ser produzidos três lotes pilotos os quais devem ser submetidos ao estudo de estabilidade. Para alterações pós-registro devem ser produzidos um ou três lotes pilotos e submissão dos mesmos ao

estudo de estabilidade de acordo com o tipo de alteração e com o que é preconizado na RDC n° 48/2009 que trata sobre as alterações pós registro (Brasil, 2005).

Tanto a RE n°01/05 da ANVISA quanto o guia do ICH Q1A 02/2003 que trata sobre os testes de estabilidade em novas substâncias farmacológicas e novos produtos farmacêuticos, definem que a frequência dos testes de estabilidade devem ser 0,3 e 6 meses para o estudo acelerado, 0, 3, 6, 9, 12, 18 e 24 meses para o estudo de longa duração (EMEA, 2003).

Para a avaliação dos estudos, as amostras são retiradas nos tempos determinados pelo guia. São determinadas as seguintes análises: doseamento, quantificação de produtos de degradação, dissolução e pH, quando aplicáveis. (Brasil, 2005).

s resultados são usados para estabelecer ou confirmar o prazo de validade, recomendar as condições de armazenamento, avaliar efeitos químicos e físicos prolongados em condições não aceleradas e para avaliar o impacto de curtas exposições a condições fora daquelas estabelecidas no rótulo do produto, que podem ocorrer durante o transporte (Reynolds. *et al.*, 2002).

O uso de métodos indicadores de estabilidade, seletivos aos princípios ativos e seus produtos de degradação, são altamente recomendados pela ANVISA para acompanhamento de resultados provenientes de estudos de estabilidade de medicamentos (Brasil, 2003; Brasil, 2005).

Para o desenvolvimento e validação de metodologias indicativas de estabilidade, preconiza-se a realização de testes de estresse, para fim de análise (Silva *et al.*, 2009).

4.1.3. A qualidade no desenvolvimento de medicamentos

Durante os estudos de estabilidade são realizados testes que determinam a pureza do ingrediente ativo ao longo do prazo de validade e também a pesquisa de impurezas, dentre outros.

O produto pode ser contaminado pela presença de impurezas que podem se formar ou que já estão presentes no fármaco. Sendo assim, a pureza de um produto farmacêutico é determinada pelo percentual do teor do ativo encontrado em relação ao rotulado através de um método analítico adequado. A qualidade do produto não é afetada quando as impurezas possuem uma eficácia terapêutica similar ou maior do que a do ativo e quando não afeta o teor do ativo especificado. Porém, a segurança de um produto não deve estar relacionada somente com as propriedades toxicológicas do ingrediente ativo, mas também com as impurezas presentes no produto (Basak, A.K. *et al.*, 2007).

Desta forma, é importante detectar, identificar e estabelecer a toxicidade da substância desconhecida. A natureza e a quantidade dessas impurezas são determinadas por inúmeros fatores como rota sintética do fármaco, condições de reações, qualidade do material de partida, purificação, processos industriais e armazenamento do produto final. A pesquisa de impurezas

deve ser realizada através de métodos analíticos adequados, validados e que são capazes de detectar e quantificar essas impurezas (ICH, 2006).

Entre as várias técnicas para detectar e monitorar impurezas, podemos citar: cromatografia, eletroforese, espectroscopia, entre outros. Durante os estudos de estabilidade, a cromatografia líquida de alta eficiência é mais rotineiramente utilizada para separar e quantificar os analitos de interesse. O *Food and Drug Administration* (FDA) definiu esses métodos como métodos indicativos de estabilidade e são definidos como procedimentos precisos e exatamente validados, que quantificam o ingrediente ativo livre na presença de interferentes como produtos de degradação, impurezas de processos, excipientes e outros potenciais interferentes (FDA, 2000).

4.1.4. Consulta pública nº11 de 23 de janeiro de 2012 Resolução

Após a revogação do Informe técnico nº1, de 15 de julho de 2008, o Brasil ficou sem nenhuma referência regulamentar que informasse como proceder um estudo de degradação forçada, apesar deste estudo ser exigido pela RE nº1 de 2005. Sendo assim, no início do ano de 2012 a ANVISA publicou uma consulta pública sobre a legislação brasileira que estabelece os parâmetros para a notificação, identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos com princípios ativos sintéticos e semi-sintéticos, classificados como novos, genéricos e similares.

A consulta pública nº11 de 2012 não é foi muito diferente do que já era recomendado pelo guia ICH Q3B. Os limiares de notificação, identificação e qualificação são os mesmos e a consulta pública define que o estudo de degradação forçada deve ser realizado com os mesmos agentes estressantes preconizados anteriormente, aquecimento, hidrólise ácida, hidrólise básica, oxidação e fotólise, também definiu que a concentração do agente estressante e o tempo de exposição deve ser suficiente para causar degradação entre 10 a 30 %. Entretanto, a mesma não define até quando deve-se tentar promover a degradação visto que alguns fármacos são altamente estáveis. Além disso, afirmou a importância de avaliar a pureza cromatográfica dos picos durante o estudo de estabilidade (ICH, 2006).

É necessária a presença de uma legislação que contemple tais estudos, pois os mesmos têm grande valor na garantia da eficácia e principalmente a segurança de um medicamento. Sendo assim, no final do ano de 2013 a ANVISA publicou a resolução brasileira que finalmente estabeleceu os parâmetros para a notificação, identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos com princípios ativos sintéticos e semi-sintéticos, classificados como novos, genéricos e similares determinando assim como cada estudo de degradação deverá ser executado quando necessário.

4.2. Estudo de degradação forçada ou teste de estresse

Estudo que permite a geração de produtos de degradação através da exposição do insumo farmacêutico ativo e produto acabado a condições de estresse, como por exemplo, luz, temperatura, calor, umidade, hidrólise ácida, básica e oxidação. Este estudo permite o desenvolvimento de métodos indicativos de estabilidade com especificidade e seletividade adequada, bem como fornecer informações acerca das possíveis rotas de degradação de um determinado produto (Brasil, 2013).

Portanto, para a execução dos estudos de degradação de um medicamento, o ideal, é conhecer o perfil de impurezas do fármaco em questão, a fim de que se possa desenvolver um método que realmente indique somente os produtos da degradação do fármaco após realização de estresse no produto farmacêutico e não as impurezas oriundas da rota de síntese de fabricação do fármaco, tais como solventes. Além disso, é mais do que necessário conhecer o perfil de impurezas do mesmo relacionado à estrutura do fármaco, através de um estudo científico, para identificar quais as reações químicas em que a molécula possui maior suscetibilidade para gerar degradação. Feito o estudo, é possível conduzir os testes de estresse sob condições drásticas ou não, de degradação.

Os produtos da degradação formados sob as condições extremas podem ou não ser relevantes às condições reais de armazenamento do fármaco e/ou produto. Esta realidade é refletida na definição sobre o teste de degradação forçada, onde indica que o exame dos produtos de degradação obtidos sob circunstâncias de estresse é útil para estabelecer os caminhos de degradação e obter métodos analíticos validados. Entretanto, tal exame não é necessário para determinados produtos da degradação que se formam durante os estudos de estabilidade acelerada ou de longa duração (ICH, 2006).

A RE 899/2003 preconiza que quando a impureza ou o padrão do produto de degradação não estiverem disponíveis, pode-se comparar os resultados dos testes das amostras contendo impurezas ou produtos de degradação com os resultados de um segundo procedimento bem caracterizado com amostras armazenadas sob condições de estresse (Brasil, 2003).

A determina que é necessário fazer análises de produtos de degradação nos tempos estipulados para estudo de estabilidade acelerado e de longa duração. Dessa forma, embora o estudo de degradação não seja um conceito novo na legislação farmacêutica, não havia resolução que definisse um procedimento para sua realização (Brasil, 2005).

Na tentativa de sanar as dúvidas de como proceder um estudo de produtos de degradação, a ANVISA publicou em 2008, o Informe Técnico (IT) nº1 contendo diretrizes e especificações para conduzir os estudos de degradação forçada. Este informe técnico preconizava que as amostras do produto farmacêutico deveriam ser submetidas às condições definidas na tabela 2.

Tabela 2 – Condições de estresse definidas pelo IT 01/2008 para estudo de degradação forçada

Solução Ácida	0,1N HCl
Solução Básica	0,1N NaOH
Solução Oxidativa	3% H ₂ O ₂
Fotólise	UV - B fluorescente
Temperatura	60°C
Umidade	75% UR ou mais
Íons metálicos (opcional)	0,05M Fe ²⁺ ou Cu ²⁺

Fonte: Brasil, 2008

4.3. Impurezas

Impurezas são substâncias químicas não desejadas que afetam a pureza de ingredientes ativos nas formulações farmacêuticas. A presença destes produtos químicos não desejados mesmo em uma quantidade de traço pode influenciar na eficácia e a segurança de produtos farmacêuticos. Estas impurezas podem causar efeitos tóxicos ou farmacológicos que podem não ser compensados através do benefício da administração do medicamento (Sandor, G. 2003).

A partir da determinação da composição das impurezas, a produção do medicamento torna-se mais segura, possibilitando um maior controle da qualidade e dificultando possíveis adulterações do produto. Para isso, é necessário um controle de qualidade rígido para a determinação das impurezas em todos os processos produtivos desde a matéria prima até o produto acabado. Não existe uma determinação precisa sobre o perfil das impurezas em uma determinada formulação, sendo esta dependente da composição química e dos processos produtivos envolvidos (Nageswara, *et al.*, 2003).

4.3.1. Classificação de Impurezas

4.3.2. Classificação USP

A Farmacopéia dos Estados Unidos (USP) reconhece que os conceitos sobre pureza são suscetíveis às mudanças ao longo do tempo e diz que a pureza de um produto está intimamente relacionada com desenvolvimentos que ocorrem na química analítica. O que nós consideramos hoje como puro pode ser considerado impuro em alguma data futura, caso os métodos desenvolvidos consigam detectar e separar outros componentes contidos em um composto (USP 31/2008).

Os seguintes termos foram usados pela USP para classificar as impurezas:

4.3.2.1 Substâncias Extrínsecas - São substâncias que são introduzidas no produto e como consequência contaminam ou adulteram o mesmo, mas não são oriundas do processo de síntese ou da preparação, como por exemplo, produtos naturais.

4.3.2.2 Impurezas Tóxicas - Estas impurezas possuem significativa atividade biológica indesejável, mesmo presente em pequenas quantidades. São exigidas a identificação e a quantificação individual destas substâncias por testes específicos.

4.3.2.3 Componentes Concomitantes - São compostos quirais que possuem a mesma estrutura química e que diferem apenas na conformação tridimensional. Ex. Misturas de antibióticos com isômeros ópticos e geométricos. Nestes compostos, também se observam diferenças farmacológicas e toxicológicas, portanto estas impurezas devem ser monitoradas cuidadosamente (Ahuja, S., 2000).

4.3.2.4 Impurezas Ordinárias - São impurezas consideradas inócuas em virtude de não apresentarem nenhuma atividade biológica indesejável nas quantidades em que são encontradas.

4.3.2.5 Impurezas Sinalizadoras - São as impurezas ordinárias, já discutidas acima, em que são exigidas a identificação individual e quantificação por testes específicos. Estas impurezas são oriundas do processo ou produtos de degradação e fornecem informação chave sobre o processo.

4.3.2.6 Impurezas Orgânicas Voláteis - Este termo relaciona-se aos solventes residuais que podem ser encontrados na síntese do fármaco.

4.3.3. Classificação ICH

De acordo com a Conferência Internacional de Harmonização, as impurezas são classificadas como impurezas orgânicas, inorgânicas e solventes residuais.

4.3.3.1 Impurezas Orgânicas

As impurezas orgânicas podem se formar a partir de materiais de partida, subprodutos, intermediários sintéticos e produtos de degradação.

4.3.3.2 Impurezas Inorgânicas

As impurezas inorgânicas são derivadas do processo produtivo e normalmente são conhecidas e identificadas como reagentes, ligantes, sais inorgânicos, metais pesados, catalisadores, filtros e carvão.

4.3.3.3 Solventes Residuais

Os solventes residuais são impurezas originadas dos solventes.

4.3.3.4 Impurezas Relacionadas à Síntese

A maioria dos fármacos desenvolvidos são moléculas químicas sintetizadas. As substâncias químicas envolvidas na síntese ou no processo produtivo podem ser carregadas e o produto final pode apresentar traços destes materiais. Estes materiais incluem matérias-primas, intermediários, solventes, reagentes químicos, catalisadores, subprodutos e impurezas presentes em materiais de partida.

4.3.3.5 Materiais de Partida e Intermediários

São compostos usados para sintetizar a forma final da molécula, os materiais que não reagiram, os envolvidos na etapa final da síntese podem resistir à reação e a etapa de purificação e aparecem no produto final.

As impurezas presentes nos materiais de partida também contribuem para a contaminação do produto final e sua determinação pode auxiliar na identificação das impurezas presentes no produto final e contribui para a compreensão dos mecanismos de formação destas impurezas (Gavin, P.F.; Olsen, 2006).

4.3.3.6 Reagentes, Ligantes e Catalisadores

Estes compostos são pouco encontrados nas matérias primas, contudo em alguns casos podem causar problemas sérios de contaminação. Conforme na figura 1, o tem a ilustração de antibióticos beta-lactâmicos. Além disso, muitas reações são promovidas por catalisadores metálicos e, em alguns casos, em conjunto com os reagentes podem reagir com os intermediários ou produtos finais e formar sub-produtos (Sandor, G., 2003; Muehlen, E., 1992).

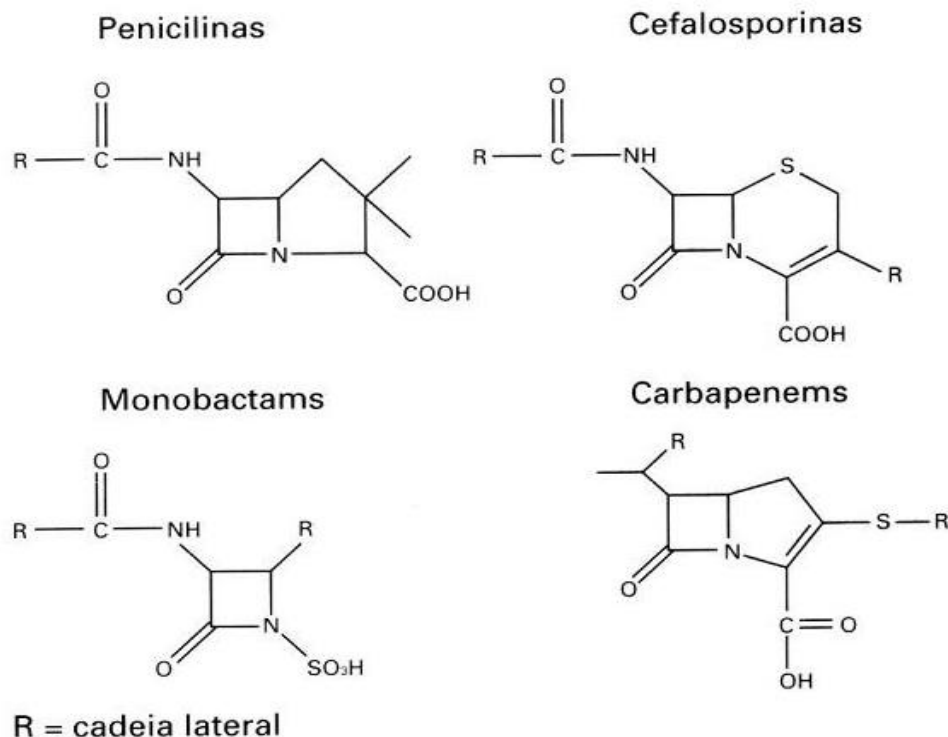


Figura 1 - Estrutura dos antibióticos beta-lactâmicos (Williams, 1999).

4.3.3.7 Subprodutos da síntese

A seletividade de uma reação química raramente atinge 100% e reações secundárias frequentemente ocorrem durante a síntese de determinada substância. Subprodutos são impurezas de síntese mais comuns em matérias primas e podem ser formados a partir de uma variedade de reações secundárias como isomerização, dimerização, rearranjo, reação incompleta, e reações indesejadas entre os materiais de partida e catalisadores (Qiu, F. *et al.*, 2007).

Como são compostos não programados, a identificação de todos os sub-produtos formados torna-se uma tarefa difícil, principalmente, no desenvolvimento da metodologia analítica. A formação de um derivado da piperazina é um exemplo típico de reação secundária na síntese peptídica (Sandor, G.,2003).

4.3.3.8 Impurezas de solventes

Os solventes são necessários para a solubilização de substâncias. Muitos solventes que fazem parte da síntese atuam como fontes de impurezas. O cloreto de metileno é constantemente usado em reações de acilação de Friedel-Crafts do benzeno ou derivados fenólicos e também o 2-hidroxitetrahydrofurano uma impureza presente no tetrahydrofurano usado como solvente em metodologias analíticas (Sandor, G.,2003).

4.3.3.9 Impurezas relacionadas à formulação

As impurezas também podem se formar em um produto farmacêutico a partir de interações com os excipientes, e podem se tornar agentes indutores de reações como resultado de reação de incompatibilidade. Além disso, durante o processo de formulação, uma substância é exposta a uma variedade de fatores que podem conduzir a sua degradação. Por exemplo, o calor usado para a secagem ou para a embalagem, pode facilitar degradação de substâncias termolábeis. As soluções e as suspensões são propensas à degradação decorrente de hidrólise. Porém, as reações de hidrólise também podem ocorrer em formulações sólidas, quando a água ou outro solvente são usados para a granulação ou durante a estocagem do produto em local úmido (o que não é recomendado). Reações similares também podem ocorrer com outros solventes. Ocorrem em casos em que o ingrediente ativo é sensível à oxidação. Similarmente, materiais sensíveis à luz podem se degradar a partir de reações fotoquímicas.

4.3.3.10 Impurezas relacionadas à degradação

O produto de degradação é uma molécula resultante de modificações químicas causadas pela exposição da substância a fatores como já citados, além da reação com a embalagem primária. Como exemplo, o caso do aspartame quando exposto ao calor úmido por um longo período ocorre a formação por hidrólise do L- aspartil- L- Fenilalanine.

Quando uma formulação é desenvolvida, pode-se alterar de forma significativa todas e cada uma das características dos seus componentes, e por isso é necessário conhecer as conseqüências relativas à perda de atividades ou ao aparecimento de toxicidade (Sandor, G.,2003).

Várias impurezas podem ser produzidas devido à degradação do ingrediente ativo ou a partir de interações de incompatibilidade durante o armazenamento. Além disso, os fatores físicos como luz, concentração, pH, umidade e calor podem desencadear reações químicas ou contaminação microbiológica que favorecerão o aparecimento de produtos de degradação com conseqüente aparecimento de efeitos adversos (Gavin, P.F. e Oslen, 2006).

4.3.4. Degradação Física

O produto não mantém as propriedades físicas originais. Parâmetros que alteram características físicas do medicamento e envolvem aparência, muitas das vezes associada à formulação, como a escolha do revestimento, umidade (embalagens não eficientes ou umidade residual), homogeneidade da dose, que envolve processos de formulação, escolha de excipientes, processos de mistura, envase, polimorfismo, que são alterações da estrutura cristalina do fármaco, que influencia na biodisponibilidade do medicamento. O grau de cristalinidade de um sólido também influencia a sua estabilidade, podendo afirmar que as formas sólidas cristalinas são geralmente mais estáveis do que as formas amorfas, pois as moléculas estão relativamente mais imobilizadas, sendo menos provável que interajam com outras moléculas.

Outros aspectos também abrangidos pela degradação física são: palatabilidade, dissolução e suspendabilidade (Singhal & Curatolo, 2004).

4.3.5. Degradação Química

Nos medicamentos, a degradação química ocorre, na grande maioria dos casos, sem deixar evidências visuais ou olfativas, podendo conduzir a uma redução no teor em substância ativa ou, o que é muito mais grave, à formação de produtos com toxicidade superior à do fármaco original.

A degradação química no estado sólido é geralmente mais lenta, seguindo freqüentemente uma cinética de pseudo-ordem zero, do que a degradação em solução que segue normalmente uma cinética de pseudo-primeira ordem, pois somente a fração de moléculas em solução, isto é dissolvidas em camadas de solvente associadas à fase sólida, é que reage quimicamente. As causas químicas de degradação do fármaco e do medicamento podem ser classificadas como ambientais. Os fatores ambientais que podem reduzir a estabilidade de um produto são a exposição a temperaturas adversas, a luz, principalmente luz UV, a umidade e gases como o oxigênio e o dióxido de carbono (Baertschi, 2005).

4.4. Produto de degradação

4.4.1. Realização dos estudos de degradação forçada

Para o início dos estudos de degradação forçada recomenda-se tentar prever os possíveis produtos de degradação da substância, para direcionar as condições dos testes, através dos grupos funcionais da substância ativa. Um levantamento de informações como solubilidade, pK(s), instabilidade química conhecida, enantiômeros, higroscopicidade entre outras, são muito importantes, pois, podem auxiliar na escolha do método analítico (Baertschi, 2005).

Os estudos de degradação forçada devem promover degradação em extensão suficiente a fim de permitir avaliação da formação de produtos de degradação. Os testes devem promover uma degradação superior a 10% (dez por cento) e inferior àquela que levaria à degradação completa da amostra, comprometendo o teste. Nos testes em que a degradação for inferior a 10% (dez por cento), a empresa deve apresentar justificativa técnica fundamentada. Os resultados dos ensaios servirão de suporte para o desenvolvimento e validação da metodologia de análise dos produtos de degradação formados e para a análise crítica do perfil de degradação do medicamento. Deve-se utilizar uma amostra controle (sem degradação) para a avaliação dos resultados. O composto não necessariamente irá degradar em qualquer condição, nestes casos, não é preciso aumentar a condição (Baertschi, 2005).

Para realização do estudo de teste de estresse e para formar os produtos de degradação, a força de condições de stress pode variar devido à estrutura química da substância medicamentosa, o tipo de medicamento, e os requisitos de armazenamento de produtos específicos (Brunner, 2011).

Na tabela 3, têm-se um estudo de degradação forçada de acordo com o definido por Brunner.

Tabela 3 – Estudo de estresse segundo Brummer

Condição de estresse	Exemplo	Fármaco	Produto farmacêutico	Placebo do produto
Hidrólise ácido / base	0,01 à 0,1N	1-7 dias	24 a 48 horas	24 a 48 horas
Oxidação	0,3% H ₂ O ₂	Poucas horas a 7 dias	24 a 48 horas	24 a 48 horas
Luz	1200 Lux h	Acima de 2 semanas	>48 horas	>48 horas
Temperatura	10° à 70°C	>48 horas	Acima de 3 semanas	Acima de 3 semanas
Temperatura / Umidade	10°C a 70°C e 60 a 90% UR	Acima de 2 semanas	Acima de 3 semanas	Acima de 3 semanas

Fonte: Brummer, 2011

Não é necessário examinar especificamente um produto de degradação que não é formado. As condições específicas como intensidade ou duração depende das características químicas do fármaco. O estudo é conduzido no princípio ativo isolado, na formulação e no placebo e devem ser comparadas com amostras não degradadas (controle) e com o branco. O composto não necessariamente irá degradar em qualquer condição, nestes casos, não é preciso aumentar a condição. Os estudos devem ser repetidos quando o método ou a formulação ou o processo mudarem (Baertschi, 2005).

Outro aspecto importante é demonstrar o mecanismo e a cinética de formação de cada produto de degradação, quando for possível, pois sabe-se da complexidade da investigação de certas reações, como por exemplo, as auto-oxidações (Reynolds et al, 2002).

Para avaliação dos produtos de degradação pode-se utilizar o cálculo do balanço de massa, que nada mais é que quantificar os picos de degradação e então comparar com a perda da quantidade de amostra do composto original. O balanço de massa é aceito quando totalizar aproximadamente 100%, ou seja, a diminuição da potência do composto original é convertida em produto de degradação quantificável (Lukulay; Hokanson, 2005).

É preciso entender que os estudos de degradação forçada mostram indícios do que pode ocorrer com a substância, e assim, destaca-se novamente a importância da extensão dos ensaios para que a condição de estresse escolhida não force demais a decomposição do fármaco em estudo, desviando o foco da preocupação e investigando certos produtos de degradação sem necessidade (Baertschi, 2005).

Na tabela 4, são compilados guias artigos e outras obras nas quais existem recomendações sobre a condução de estudo de degradação forçada e o que se verifica é a falta de um padrão nos procedimentos (Reynolds *et. al*, 2002; Sehrawat; Maithani; Singh, 2010).

Tabela 4- Recomendação para estudo de degradação forçada

Tipo de degradação	Referência	Recomendações
TÉRMICA	ICH -Q1A (R2)	Incrementar 10°C acima do estudo de estabilidade acelerado
	ALSANTE et al., 2007	Sólido: 50°C ou mais e umidade maior que 75%. Utilizar cinética de Arrhenius para determinar a temperatura e duração adequadas para a substância
	REYNOLDS et al., 2002	Sólido: Verificar a energia de ativação necessária para conduzir um estudo com incremento de temperatura que represente um ensaio relativo ao estudo acelerado
	BAERTSCHI, 2005	Sólido: Expor à 70°C durante uma semana, pode-se utilizar umidade relativa de 75%. Solução aquosa: Acima de 70°C durante 1 à 7 dias.
	SEHRAWAT; MAITHAIN; SINGH, 2010	70°C e umidade 75% por mais de 2 semanas
FOTOLÍTICA	ICH - Q1B	Amostras devem ser expostas à luz totalizando não menos que 1,2 milhões de lux h e uma energia ultravioleta integrada de 200 W h m ⁻² . Devem ser expostas lado a lado utilizando uma amostra controle (coberta com folha de alumínio). Realizar o teste apenas com o composto em solução simples ou suspensão. Utilizar recipientes inertes e transparentes. Para substâncias fotoestáveis, pode-se conduzir estudos além do recomendado.
	ALSANTE et al., 2007	Utilizar guia ICH. Para estudos de degradação forçada utilizar 2 vezes o recomendado pelo guia. Para estudos em solução, a acetonitrila é o solvente de escolha.
	BAERTSCHI, 2005	Expor as amostras sólida e aquosa 2 a 3 vezes mais do que recomendado pelo ICH.

(continuação)

HIDRÓLISE ÁCIDA	ICH - Q1A (R2)	Hidrólise em solução ou suspensão em uma larga faixa de pH.
	ALSANTE et al., 2007	Utilizar solução de HCl ou H ₂ SO ₄ em concentração 0,1 à 1,0 M. Pode ser conduzido em solução ou suspensão. Para solubilização da substância, pode-se utilizar co-solventes apropriados ou ajustar o pH.
	BAERTSCHI, 2005	Utilizar solução de HCl 0,1 N acima de 70°C durante 1 à 7 dias.
	SEHRAWAT; MAITHAIN; SINGH, 2010	Solução do fármaco de 1 mg L ⁻¹ em HCl 0,1 a 1,0 M em temperatura ambiente ou maior
HIDRÓLISE ALCALINA	ICH - Q1A (R2)	Hidrólise em solução ou suspensão em uma larga faixa de pH.
	ALSANTE et al., 2007	Utilizar solução de NaOH, LiOH ou KOH em concentração 0,1 à 1,0 M. Pode ser conduzido em solução ou suspensão. Para solubilização da substância, pode-se utilizar co-solventes apropriados ou ajustar o pH.
	BAERTSCHI, 2006	Utilizar solução de NaOH 0,1 N e outra de pH 8,0 acima de 70°C durante 1 à 7 dias.
	SEHRAWAT; MAITHAIN; SINGH, 2010	Solução do fármaco de 1 mg L ⁻¹ em NaOH 0,1 a 1,0 M em temperatura ambiente ou maior
OXIDATIVA	ICH - Q1A (R2)	Apenas cita que quando apropriado, deve-se incluir o efeito da oxidação, no entanto, sem citar como conduzi-lo.
	ALSANTE et al., 2007	Pode ser conduzido em atmosfera de O ₂ ou na presença de peróxidos. Recomenda-se fortemente a utilização de radicais livres. Utilizar solução da substância em solvente adequado +5 a 20% do iniciador de radical livre em pressão atmosférica. Pode-se aumentar a pressão atmosférica do teste com O ₂ e aumentar a temperatura do sistema para estressar ainda mais a substância. para sólidos utilizar uma comparação de ambiente de argônio versus ambiente de oxigênio em seu espaço vazio dentro de um recipiente fechado.
	BAERTSCHI, 2005	Utilizar solução de 0,3% de H ₂ O ₂ em temperatura ambiente no escuro durante 1 à 7 dias.
	SEHRAWAT; MAITHAIN; SINGH, 2010	O ₂ + agente iniciador em acetonitrila:água 80:20 (v/v) a 40°C por 1 a 7 dias 0,3% a 3% de H ₂ O ₂ a temperatura ambiente por algumas horas até 7 dias protegido da luz

4.4.2. Ensaios para o teste de degradação forçada

4.4.2.1 Termólise

A degradação térmica é causada pela exposição a altas temperaturas o suficiente para induzir a quebra de uma ligação, este mecanismo é conhecido como pirólise.

O aumento da temperatura é um método básico para acelerar a decomposição química de drogas e induzir a quebra de uma ligação. Dessa forma, na realização do estudo de degradação forçada utiliza-se temperatura maior do que a utilizada no estudo de estabilidade acelerada (>40°C) para que degradações que poderiam ocorrer após um longo tempo de armazenamento sejam aceleradas e ocorram durante o estudo a fim de verificar se o produto manterá suas características durante o tempo de armazenamento da vigência do prazo de validade (Florence; Attwood, 2003).

A cinética de Arrhenius é a expressão mais usada para estabelecer a temperatura apropriada e a duração máxima do teste de degradação térmica. Se a decomposição térmica de determinado fármaco obedece à equação de Arrhenius é possível estimar o efeito da temperatura na taxa de degradação do composto a partir da energia de ativação.

$$K = A \exp (-E_a / RT)$$

Onde:

K é a constante de velocidade

A é a constante pré-exponencial

E_a = energia de ativação

R é a constante universal dos gases

T é temperatura em grau Kelvin

Alguns autores, afirmam que a maioria dos fármacos possuem energia de ativação entre 12-24 kcal/mol. Vários autores divergem quanto ao valor da energia de ativação, no entanto o PhRMA recomenda usar o valor de 12 kcal/mol assumindo uma posição mais conservadora. Por exemplo, se seguirmos a recomendação do PhRMA, assumindo a E_a=12 kcal/mol, e colocarmos uma amostra durante uma semana a 70°C, isto equivaleria a 100 dias na temperatura ambiente 25°C (14,2 x 7 =99,4 dias). Pode-se notar que este tipo de reação segue um caminho autocatalítico, ou seja, inicia-se por um período de indução, (lag) seguido de um período de aumento acelerado da degradação e depois um decaimento gradativo na medida em que o fármaco é consumido. Este tipo de cinética é mais evidente em formulações sólidos orais (Bakshi, M. ; Singh, S.,2003).

A partir desta afirmação assume-se que a decomposição da molécula segue a mesma cinética em todas as temperaturas. Isto porque o nível de degradação desta condição não ultrapassa 5% de degradação. Esta suposição não é verdadeira para todos os compostos, mas para a maioria

dos fármacos de moléculas pequenas o caminho de degradação para temperaturas acima de 70°C é considerado o mesmo (Bakshi, M. ; Singh, S., 2003).

De acordo com a literatura recomenda-se a utilização de temperatura acima de 70°C por tempos curtos a fim de evitar a formação de produtos de degradação secundários (Bakshi, M., Singh, S., 2003; Anderson NH, 1996).

4.4.2.2 Umidade

A umidade é um fator ambiental que exerce grande influência na estabilidade de produtos farmacêuticos podendo afetar a cinética de degradação do fármaco. Não só os fármacos higroscópicos são sensivelmente degradados pela umidade relativa do ar, mas também fármacos não higroscópicos sofrem fenômenos de alteração, principalmente quando a umidade é associada aos efeitos de temperatura. Para o teste de umidade, a água é o solvente de primeira opção em qualquer processo de solubilização, também é um meio natural para reações de hidrólise.

4.2.2.3 Hidrólise ácida ou básica

A degradação causada pela água é chamada de hidrólise e é considerada a condição que mais contribui para a degradação dos fármacos. Dado que a água está presente em níveis significativos em muitos fármacos (hidratos), excipientes e também no ambiente, principalmente na zona tropical (zona 4). A hidrólise é afetada por vários fatores como pH, tampões, força iônica e solventes. Muitos fármacos são considerados como instáveis nesse meio e necessitam de intervenções durante a formulação e armazenamento, para que a eficácia e sua estabilidade e da forma farmacêutica final não sejam comprometidas. Para a avaliação da instabilidade sob a condição de hidrólise, também deve ser levado em consideração o pH do meio pois íons hidroxila podem acelerar ou retardar o processo de degradação. As reações de hidrólise são tipicamente catalisadas por condições ácidas ou básicas. Isto é especialmente importante quando o composto testado possui um grupo funcional ionizável e pode existir em diferentes estados de ionização em determinadas condições aquosas. Para realização deste estudo, utiliza-se principalmente ácido clorídrico para hidrólise ácida e hidróxido de sódio para hidrólise básica (Silva *et al.* 2009).

Nestes testes a degradação deve ser conduzida em solução. Porém, alguns compostos não são solúveis em água em determinada faixa de pH na concentração de análise. Desta forma a estabilidade do fármaco ou da formulação é avaliada em suspensão, através da adição de um co-solvente ou através do ajuste do pH para facilitar a dissolução. Os solventes mais usados são acetonitrila e metanol. O metanol deve ser usado com cautela em condições ácidas, pois este age como agente nucleofílico nos mecanismos de degradação quando os compostos analisados possuem sítios eletrofílicos (ácido carboxílico, ester e amida). Por isso, a acetonitrila é usada

preferencialmente apesar de não ser totalmente inerte. Desta forma pensa-se que a taxa de degradação aumenta quando se utiliza o co solvente, porém na maioria dos casos (25-40%) a taxa é menor (Bakshi, M. , Singh, S., 2003).

As reações e as taxas de degradação dependem de vários fatores como constante dielétrica, polaridade do solvente e força iônica. O uso de temperaturas elevadas é apropriado, pois acelera de maneira significativa a degradação, porém não é obrigatório para testes em soluções aquosas.

4.2.2.4 Oxidação

A degradação oxidativa é uma das principais causas de instabilidade de fármacos, dentre os mais conhecidos e estudados têm-se os esteróides, antibióticos, vitaminas, óleos e gorduras. A oxidação envolve a remoção de um átomo eletropositivo, radical ou elétron, ou a adição de um átomo eletronegativo ou radical. Muitas oxidações são reações em cadeia, que procedem lentamente sob a influência do oxigênio molecular. Tal processo de reação é referido como uma auto-oxidação (Florence & Attwood, 2003).

O peróxido de hidrogênio é utilizado para criar as condições de estresse empregadas para o estudo de oxidação. Esse parece ser muito mais popular para o propósito que qualquer outro agente oxidante. A concentração de peróxido utilizada varia entre 1% a 30%, conforme mostra a figura 2.

A estabilização de fármacos frente a condições oxidativas envolve a observação de um número de precauções durante a manufatura e estocagem. O oxigênio em recipientes farmacêuticos deve ser substituído por nitrogênio ou dióxido de carbono; assim como o contato com íons de metais pesados, que catalisam a oxidação, devem ser evitados e a estocagem deve ser a temperaturas reduzidas (Florence & Attwood, 2003). Na tabela 2, tem um fluxograma do estudo de estresse para oxidação.

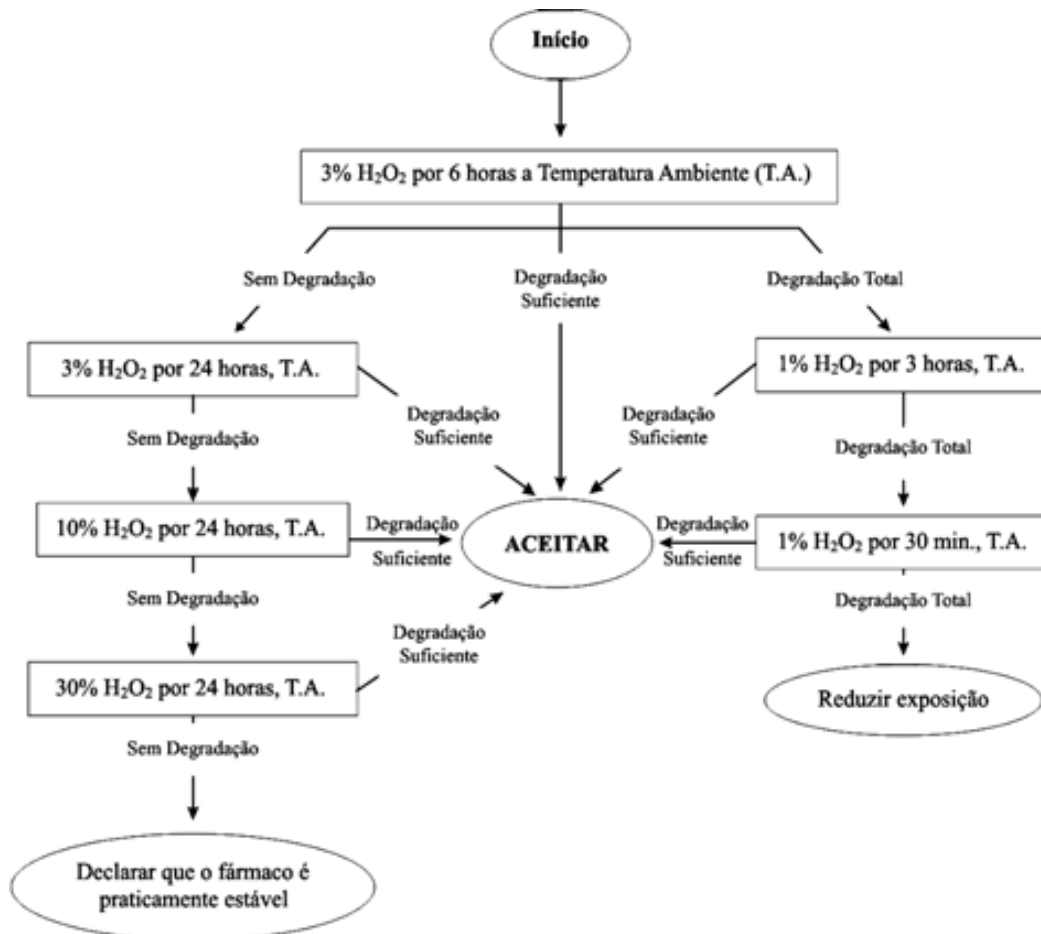


Figura 2: Fluxograma do estudo de estresse: Oxidação (Fonte: Adaptado de: Singh & Bakshi, 2000)

4.2.2.5 Íons metálicos

Antes era um teste opcional, mas com a nova RE 58 o teste tornou-se mandatório para o estudo de degradação forçada.

Este teste também é uma forma de degradação por oxidação, em que a adição de íons metálicos em soluções contendo o fármaco é também uma ferramenta importante para verificar a tendência do composto à oxidação. São testes realizados com soluções de Fe^{2+} ou Cu^{2+} , nas concentrações, geralmente de 0,05M (Boccardi, 2008).

4.2.2.6 Fotólise

Atualmente, o estudo de fotoestabilidade é um importante mecanismo de verificação de estabilidade de drogas e fármacos, visto que a radiação ultravioleta é muito energética e pode propiciar a clivagem de muitas ligações químicas, ocorrendo a degradação da molécula (Silva *et al.*, 2009).

É a degradação resultante da exposição da luz visível ou ultravioleta numa faixa de comprimento de onda que varia de 300 a 800 nm. A degradação é decorrente da absorção da radiação pelo fármaco ou formulação. A taxa de fotodegradação é diretamente dependente da

quantidade de radiação incidente e da quantidade de radiação absorvida pelas moléculas. Um composto que não absorve a radiação da luz visível ou ultravioleta também pode sofrer degradação, caso haja algum agente na formulação que facilite a absorção da radiação. O ICH possui um guia para condução de estudos de foto-estabilidade onde recomenda uma exposição de no mínimo 1,2 milhões lux hora de luz visível e 200W-hr m² de UVA. Para os estudos de degradação forçada recomenda-se uma exposição de 3 a 10 vezes da quantidade preconizada para o estudo de foto-estabilidade (EMEA, 2006).

O ICH descreve duas fontes de fótons (Opção 1 e opção 2) porém, diferenças podem ocorrer entre as fontes e portanto o ideal é utilizar a mesma fonte para os testes de degradação forçada e para os estudos de fotoestabilidade. Os produtos de degradação formados nestas condições são considerados produtos de degradação significativos.

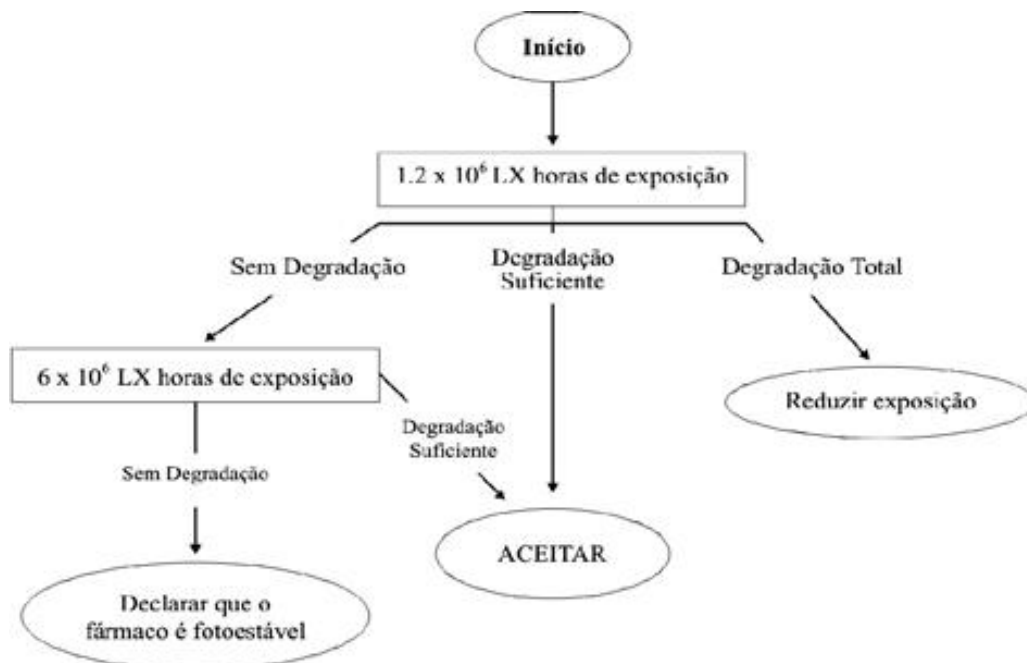


Figura 3: Fluxograma do estudo de estresse: Fotólise (Fonte: Adaptado de: Singh & Bakshi, 2000)

4.5. Método indicativo de estabilidade

4.5.1. Desenvolvimento de MIE e sua importância

O perfil de impurezas é a descrição de impurezas presentes em um novo fármaco. Esse perfil pode ser estabelecido a partir das atividades analíticas envolvidas na detecção, identificação, elucidação das estruturas e determinação quantitativa das impurezas orgânicas e inorgânicas em lotes de fármaco e formulações farmacêuticas. A definição desse perfil é de extrema importância em todas as fases da pesquisa e fabricação do fármaco. O responsável pela fabricação do fármaco deve conhecer o perfil das impurezas do lote do ativo utilizado no desenvolvimento das formulações a fim de diferenciar as impurezas de síntese dos produtos de degradação para que assim possa desenvolver um método analítico que seja indicativo de estabilidade (Melo, 2012).

Os métodos indicativos de estabilidade (MIE) são procedimentos analíticos quantitativos com o objetivo de monitorar resultados fora de especificação, para detectar o decaimento da quantidade do fármaco devido à degradação, durante o estudo de estabilidade e também em processos de controle de qualidade. De acordo com os guias do Food and Drug Administration (FDA), o método indicativo de estabilidade é definido como um procedimento analítico que quantifica com precisão e exatidão o fármaco na presença de outras substâncias como produtos de degradação, impurezas de processo, excipientes e outras impurezas e o FDA recomenda que todos os métodos de teor para estudos de estabilidade sejam indicativos de estabilidade. São necessários três componentes para estabelecer o método indicativo de estabilidade: geração da amostra, desenvolvimento do método e a validação (O'Donnel, P, 2005).

O método indicativo de estabilidade, geralmente é desenvolvido através de amostras degradadas sob condições que excedam as condições aceleradas usadas nos estudos de estabilidade, como já descrito anteriormente. O objetivo é promover uma degradação de 10-20% do fármaco, já que acima desta faixa os produtos de degradação relevantes são destruídos e formam-se outros produtos secundários que provavelmente não irão se formar durante os estudos formais de estabilidade. Abaixo desta faixa, produtos de degradação importantes podem ser omitidos. Os testes de degradação forçada são realizados no placebo, para avaliar os produtos de degradação oriundos da formulação, no fármaco isolado e na formulação a fim de verificar a incompatibilidade entre o fármaco e os excipientes e obter rotas de degradação que auxiliarão no processo produtivo e armazenamento. Depois de degradada, a amostra é usada no desenvolvimento do método.

4.5.2. Balanço de massa

O balanço de massa é definido pelo ICH como: o valor adicionado do teor mais os produtos de degradação formados para ver como esta adição se aproxima do 100% do valor inicial, considerando a margem de erro analítico. A avaliação do balanço de massa assegura que o método analítico detecta todos produtos de degradação. O guia reconhece que é difícil determinar o balanço de massa em razão de diferenças nos fatores de resposta e na precisão analítica (ICH, 2006).

5. ASPECTOS REGULATÓRIOS

5.1. ICH

A Conferência Internacional em Harmonização de requerimentos técnicos para o registro de produtos farmacêuticos para uso humano (ICH) foi estabelecido em 1990. É um projeto formado por Estados Unidos, Europa e Japão, com finalidade de padronizar o processo pelo qual novos fármacos e medicamentos são produzidos, testados e comercializados. O ICH abrange quatro áreas: qualidade, segurança, eficácia e multidisciplinaridade.

A Conferência Internacional de Harmonização possui 5 guias que orientam algumas questões relativas às impurezas:

Q1A (R) Testes de estabilidade em fármacos e produtos novos.

Q3A (R2) Impurezas em fármacos novos.

Q3B (R2) Impurezas em produtos novos.

Q3C (R) Impurezas: solventes residuais.

Q6A Especificações: procedimentos e critérios de aceitação para fármacos e produtos novos; substâncias químicas.

A elaboração dos guias do ICH Q3A(R2), Q3B(R2) e Q3C(R) representou um consenso de como as impurezas devem ser controladas nos produtos comercializados. Contudo, várias questões não são discutidas, como por exemplo, níveis aceitáveis de impurezas durante o desenvolvimento e o controle de impurezas genotóxicas.

Os guias descrevem que as impurezas podem ser originadas a partir de várias fontes como: materiais de partida, sub-produtos intermediários de síntese, produtos de degradação, reagentes e catalisadores. Em acordo com o que já foi discutido ao longo trabalho.

O guia 3QA(R2) propõe que o fabricante “deve monitorar as impurezas potenciais que podem se formar durante a síntese, purificação e armazenamento do fármaco”. O monitoramento

deve ser realizado através de estudos laboratoriais conduzidos em lotes do fármaco destinados ao desenvolvimento e à comercialização. Os estudos devem incluir os resultados dos testes de estresse usados para identificar as impurezas que poderão se formar durante o armazenamento, de acordo com o Guia Q1A de estabilidade. A tabela 4 ilustra os limites descritos no ICH Q3A(R2) como limites de notificação, identificação e qualificação. Esses limites são baseados somente na quantidade do fármaco consumida pelo paciente. Considerando que o consumo de grande quantidade do fármaco significa uma maior exposição à níveis altos de impureza, as tolerâncias são menores para os casos em que a dose máxima diária é menor do que 2 gramas do fármaco.

Tabela 4: Recomendação do guia Q3A(R2) sobre o registro das impurezas encontradas no fármaco

Dose máxima diária	Limite de notificação	Limite de Identificação	Limite de qualificação
≤ 2g/dia	0.05%	0,10% ou 1,0 mg /dia (o que for menor)	0,15% ou 1,0 mg / dia (o que for menor)
> 2g/dia	0.03%	0.05%	0.05%

Fonte: ICH,2006

O fabricante deve reportar o valor da impureza que atingir o limite de notificação, quando o nível de impureza atinge o limite de identificação, a estrutura da substância deverá ser elucidada. Quando a impureza atingir o nível de “qualificação” o fabricante deve estabelecer a segurança da impureza.

O nível de impureza presente no fármaco será considerado qualificado quando testado em estudos de segurança e/ ou clínicos. As impurezas que são metabólitos em organismos humanos ou animais também são consideradas qualificadas. Isto sugere que a impureza é considerada qualificada se ela estiver presente no fármaco usada nos estudos pré-clínicos e clínicos em níveis iguais ou maiores do que no produto comercializado. O guia vai mais além: uma impureza pode ainda ser considerada qualificada mesmo se a quantidade da impureza no produto comercial for mais elevada do que o que a quantidade da impureza presente no fármaco que foi utilizada durante o desenvolvimento, desde que uma quantidade absoluta testada nestes estudos é grande quando comparada à exposição do paciente como resultado do consumo do produto. Por exemplo, a quantidade do contaminante é de 0,05% no fármaco utilizada durante o desenvolvimento e 0,1% no produto comercial. Em relação às impurezas tóxicas o guia diz que “procedimentos analíticos devem ser desenvolvidos para as impurezas que inesperadamente produzam efeitos tóxicos e farmacológicos a níveis menores que o limite de identificação” e menciona que os limites de qualificação podem ser alterados quando se comprova a segurança ou toxicidade.

ICHQ3A (R2) de 2006, observa que os testes de segurança não precisam ser realizados se o fabricante baixar o nível da impureza para um limiar abaixo da qualificação ou se este fornecer dados de segurança a partir de publicações da literatura científica. Se estas opções não forem possíveis a qualificação é necessária. Os testes de segurança geralmente realizados são: ensaios de mutações genéticas, ensaios para danos cromossômicos e estudos de toxicidade de dose repetida em uma única espécie num período que varia de 14 a 90 dias duração. Dependendo da classe da impureza, testes adicionais podem ser necessários. O guia propõe que os limites podem ser alterados para menos se a substância pertencer a uma determinada classe tóxica ou para mais se a classe química não é considerada tóxica.

O guia Q3B (R2) de 2006, descreve as impurezas presentes nos novos produtos que são produtos de degradação do fármaco ou produtos resultantes da interação do fármaco com os excipientes ou embalagem. Este não menciona impurezas oriundas de excipientes ou da embalagem primária. Como já mencionado, o guia não orienta para os produtos utilizados durante o desenvolvimento. Além disso, são excluídos os produtos biofarmacêuticos, tais como, peptídeos, oligonucleotídeos, produtos fermentados e produtos semisintéticos vegetais e animais e não deixa claro porque estes produtos são excluídos. O guia também não se aplica às formas polimórficas de medicamentos e impurezas enantioméricas. Os limites de notificação, identificação e qualificação de impurezas em medicamentos novos são apresentados na tabela 5, onde as quantidades de medicamento ingerido são mais estratificadas do que os níveis especificados para as quantidades do fármaco.

Tabela 5: Limites de notificação, identificação e qualificação para medicamentos

<i>Dose máxima diária</i>	<i>Limite de notificação</i>	<i>Limite de Identificação</i>	<i>Limite de qualificação</i>
≤ 1 mg		1,0% ou 5 ug dose total diária (o que for menor)	
1 mg – 10 mg		0,5% ou 20 ug dose total diária (o que for menor)	
10 mg – 100mg			0,5% ou 200 ug dose total diária (o que for menor)
< 10 mg			1,0 % ou 50 ug dose total diária (o que for menor)
> 10 mg – 2 g		0,5% ou 2 mg dose total diária (o que for menor)	
> 100 mg – 2g			0,2% ou 3 mg dose total diária (o que for menor)
≤ 1 g	0,1%		
> 1 g	0,05%		
> 2 g		0,1%	
> 2 g			0,15%

Fonte: Adaptado de ICH, 2006

Os critérios de qualificação para as impurezas presentes no novo produto são os mesmos já citados acima para a novo fármaco. O produto de degradação é considerado qualificado se ele estiver presente em níveis similares ou superiores durante os testes de segurança ou em estudos clínicos. Também como em Q3A (R2), todos os produtos de degradação que sejam considerados metabólito significativo em estudos toxicológicos ou clínicos são considerados qualificados. Do mesmo modo, níveis mais elevados podem estar presentes no produto comercializado, desde que o valor absoluto testado em nesses estudos seja grande em comparação com a exposição resultante do consumo do produto comercializado. Impurezas presentes em níveis que excedem o limite de qualificação devem ser reduzidas ou qualificadas, usando dados da literatura científica ou experimentação real. Os estudos toxicológicos mencionados no Q3B(R2) são idênticos aos citados no Q3A (R2).

ICHQ 3C de 2007, recomenda as quantidades aceitáveis de solventes residuais em medicamentos comercializados e, em muitos aspectos é mais complexo do que Q3A e Q3B. Tal como acontece com as outras impurezas discutidas acima, os solventes são usados na preparação de produtos farmacêuticos e muitas vezes não é possível reduzi-los no produto final para níveis abaixo de detecção. Tal como acontece com outras impurezas, os solventes residuais não conferem nenhum benefício, somente riscos. A abordagem adotada na Q3C é listar os solventes mais usados e classificá-los em um dos três grupos.

Classe 1: são solventes que possuem alta toxicidade e, se possível, devem ser evitados na elaboração de fármacos substâncias, excipientes e medicamentos. Esta categoria inclui produtos químicos conhecidos ou considerados como cancerígenos para os humanos ou que produzem significativos riscos ambientais, por exemplo, benzeno e tetracloreto de carbono.

Classe 2: são solventes descritos como produtos químicos que causam efeitos "menos tóxicos graves" como por exemplo clorofórmio, diclorometano e metanol. Esta categoria não possui efeitos genotóxicos, cancerígenos, teratogênicos ou neurotóxicos. Também estão incluídos nesta classe solventes "suspeitos de outras toxicidades significativas, mas reversíveis."

Classe 3: os solventes desta classe são considerados menos tóxicos e devem ser usado sempre que possível, tais como o etanol. O nível de contaminação por solventes pode ser estabelecido de duas maneiras: o medicamento pode ser testado diretamente ou o valor acumulado pode ser derivado a partir da soma dos teores de cada componente. Tal como acontece com as outras orientações, Q3C só cita orientações para produtos comercializados e não faz referência aos não materiais utilizados nos ensaios clínicos.

O guia Q3C de 2007, apresentou um termo novo, "exposição diária permitida". Este termo se refere a um consumo farmacêuticamente aceitável de solventes residuais e descreve os métodos de determinação destes limites de exposição.

Os solventes de classe 3 têm exposição diária permitida, o EDP, de 50 mg ou mais por dia. Os limites para a classe 2 de solventes podem ser definidos por duas maneiras. O guia estabelece uma tabela com os limites de concentração (ppm) para cada solvente. Se todos os componentes da formulação atendem a essa concentração, eles podem ser usados em qualquer proporção, desde que a dose diária total do fármaco seja 10 g ou menos. Na segunda opção, a contribuição de cada solvente componente na formulação é somada. O EDP aceitável é alcançado se a soma das contribuições de cada componente for igual ou inferior ao EDP dado na tabela do guia para este solvente especial. Cinco solventes são listados como pertencentes à classe 1: benzeno, tetracloreto de carbono, 1,2-dicloroetano, 1,1-dicloroetano e 1,1,1-tricloroetano. O guia especifica os limites de concentração para cada um desses solventes. Um grupo de solventes comumente utilizados também apresenta níveis de EDP, porém os dados disponíveis são insuficientes para calcular a EDP. Por exemplo, os EDPs para a classe 2 solventes foram calculados da seguinte fórmula:

$$\text{EDP} = \frac{\text{NOEL} \times \text{ajustamento de peso}}{F1 \times F2 \times F3 \times F4 \times F5}$$

$$F1 \times F2 \times F3 \times F4 \times F5$$

Onde:

O NOEL é derivado do " estudo dos animais mais relevantes".

Os fatores referem-se a extrapolação de espécies:

F1 = 2 a partir de cães para seres humanos e F1 = 12 de camundongos para humanos. Este fator leva em conta área de superfície corporal, ou seja, são os índices de peso para cada espécie e do homem.

F2 = 10 e representa a variação Inter individual.

F3 é uma variável que leva em conta a duração do estudo utilizado para o cálculo do NOEL. O número pode variar de 1-10 dependendo da espécie estudada e da duração do estudo.

F4 é uma variável relacionada à gravidade da toxicidade e podem variar 1-10.

F5 é um fator variável aplicado, quando o Noel for estabelecido o valor de LOEL é utilizado. Portanto, verifica-se que os erros-padrão em torno desses números provavelmente são muito grandes, tornado o cálculo de EDP para solventes genotóxicos o maior desafio. Além disso, os dados utilizados para calcular os EDPs são, na maioria, derivados de estudos de carcinogenicidade em roedores.

5.2. EMEA

A Agência Européia de Medicamentos (EMA) é um organismo descentralizado da União Européia com sede em Londres criada em 1995. A sua principal atribuição é a proteção e a promoção da saúde pública e animal através da avaliação e supervisão dos medicamentos para uso humano e veterinário.

A EMA é responsável pela avaliação científica dos pedidos de autorização de introdução no mercado de medicamentos apresentados ao nível da União Européia. No procedimento centralizado, as empresas apresentam um único pedido de autorização de introdução no mercado junto da EMA.

A agência publicou um guia contemplando os limites para impurezas genotóxicas. Este guia recomenda diferenciar as impurezas em um grupo em que há evidência experimental para estabelecer um limite adequado para se pesquisar as impurezas e em outro grupo em que não há evidências experimentais suficientes para estabelecer um limite adequado. Os compostos que possuem evidência clara sobre a toxicidade devem ser regulados usando os mesmos métodos já descritos para a classe 2 dos solventes residuais. Esta relação calcula "uma exposição diária permitida" (EDP) que é calculada usando o NOEL ou o LOEL a partir de estudos animais mais a incorporação de fatores de segurança. Para compostos genotóxicos sem prova suficiente para estabelecer os níveis adequados, o guia propõe uma política de níveis de controle "tão baixo quanto razoavelmente praticável". Esta relação especifica que todos os esforços devem ser feitos para

impedir a formação de tais compostos durante a síntese e, se não possível, os esforços devem continuar para reduzir tais impurezas no produto final (por exemplo, etapas da purificação). Os compostos que caem nesta classe são geralmente aqueles que interagem com o DNA diretamente ou indiretamente como os agentes quelantes ou os agentes que geram radicais livres. Considerando que os indivíduos estão expostos teoricamente a tais agentes e conseqüentemente estão expostos aos riscos carcinogênicos, as entidades reguladoras Européias executam algumas avaliações quantitativas de risco para calcular os níveis aumentados de eventos adversos. Os métodos para estas avaliações de risco são apresentados no guia Q3C do ICH, apêndice 3, na referência à classe 1 carcinogênica de solventes. Quando a relação descrita acima possuir uma sustentação científica faltarão dados suficientes para decidir se determinado limite é adequado para as impurezas genotóxicas. Além disso, é igualmente improvável que os dados existam a partir das avaliações de risco que possam ser executadas. O guia reconhece estas limitações e propõe o uso de um limite de interesse toxicológico (LIT) ou *threshold of toxicological concern* (TTC) para as impurezas genotóxicas. O LIT se refere a um nível de exposição que não causará um risco significativo de carcinogenicidade ou de outros efeitos tóxicos e foi originalmente desenvolvido como um “limite de regulação” para aditivos de alimentos pelo FDA. O guia propõe um LIT de 1.5 µg/dia. Este limite corresponde 10^{-5} do tempo de vida em relação ao risco de câncer e que o EMEA considera justificado devido aos benefícios derivados dos fármacos. Entretanto, este guia se aplica somente às impurezas genotóxicas presentes em produtos introduzidos no mercado; o guia exclui as condições aceitáveis para os fármacos usados durante o desenvolvimento e especialmente estudos de curta duração. (Muller, L. *et al.*, 2006)

5.3. FDA

O FDA é o órgão governamental dos Estados Unidos da América que faz o controle dos alimentos (tanto humano como animal), suplementos alimentares, medicamentos (humano e animal), cosméticos, equipamentos médicos, materiais biológicos e produtos derivados do sangue humano. O Guia para indústria, *Abbreviated New Drug Application* (ANDAs), desenvolvido pelo FDA, segue o guia do ICH Q3B (R) e estabelece os critérios de aceitação, procedimentos e limites para a qualificação dos produtos de degradação. O guia ANDAs refere-se ao guia do ICH, quanto as recomendações de adoção de uma especificação que contenha lista dos produtos de degradação significativos formados durante os estudos de estabilidade, e que seja adotada para os produtos destinados a comercialização. O guia recomenda também a qualificação e o controle dos limites de produtos de degradação que possam apresentar efeitos tóxicos.

5.4. ANVISA

A pesquisa de produtos de degradação está prevista desde a publicação da RE 560/02 de 2002 o primeiro guia para a realização dos testes de estabilidade onde, para fins de registro, já era obrigatório a quantificação dos produtos de degradação através de metodologia adequada e validade. A resolução vigente sobre a condução dos estudos de estabilidade, a RE 01 de 29 de Julho de 2005 no item 2,9 propõe que os relatórios de estabilidade devem apresentar a quantificação de produtos de degradação e método analítico correspondente ou apresentar justificativa técnica de ausência. Sem ela, os registros estariam sujeitos ao atendimento de exigências técnicas ou mesmo ao indeferimento. Porém, desde então não houve nenhuma orientação a respeito dos limites de impurezas ou produtos de degradação nos medicamentos.

Seguindo o panorama mundial, a Anvisa publicou em Julho de 2008 o Informe técnico nº 120 onde são descritos algumas orientações para a condução de testes de estresse, tais como: as condições de estresse para comprovar a especificidade e a seletividade da metodologia analítica e orientar os parâmetros de identificação e quantificação dos produtos de degradação. O Informe técnico foi revogado, pois algumas das orientações estabelecidas não estavam claras e as indústrias detentoras dos registros de medicamentos entraram com um pedido de esclarecimento. A partir daí, então foram realizadas várias reuniões técnicas com objetivo de discutir as informações estabelecidas onde os representantes das indústrias e da ANVISA desenvolveram o Guia para notificação, identificação, quantificação e qualificação de produtos de degradação em estudos de estabilidade que ainda não entrou em vigor.

Dezembro de 2013 a ANVISA publicou a RDC N°58, onde estabelece parâmetros para a notificação, identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos com substâncias ativas sintéticas e semissintéticas, classificados como novos, genéricos e similares.

Esta resolução teve como objetivo orientar e apresentar os parâmetros a serem seguidos para a avaliação dos produtos de degradação em medicamentos a serem submetidos ao registro e já registrados.

A RDC 58 foi revogada pela RDC 53 de dezembro de 2015, esta é similar aos guias internacionais já apresentados, e estabelece parâmetros para notificação, identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos com substâncias ativas sintéticas e semissintéticas.

6. CONCLUSÃO

Os estudos de estabilidade são indispensáveis durante o desenvolvimento do medicamento pois, além de definir o prazo de validade do medicamento, asseguram que, durante toda a vigência da validade o produto conservará suas características dentro de uma faixa, garantindo a sua segurança e eficácia.

Os produtos de degradação ou impurezas verificados nos estudos de estabilidade devem ser notificados, identificados ou qualificados de acordo com o valor de teor obtidos para as impurezas ou degradações.

A segurança dos resultados do estudo de estabilidade somente é possível ao utilizar um método quantitativo validado que seja indicativo de estabilidade para analisar as amostras nos tempos de estabilidade definidos. O desenvolvimento de um método indicativo de estabilidade adequado somente é possível com a realização do estudo de degradação forçada.

Atualmente a ANVISA já dispõe de uma RDC com o intuito de fornecer parâmetros para o delineamento do estudo de degradação forçada em medicamentos pelas indústrias farmacêuticas.

Um estudo de estabilidade capaz de verificar os possíveis degradantes e impurezas do produto e, assim, poder controlar os níveis dos mesmos é uma das forma mais eficazes de promover e garantir a segurança e a eficácia dos produtos farmacêuticos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ahuja, S. Handbook of isolation and characterization of impurities in pharmaceuticals. Chiral Separation by Chromatography. Oxford. New York. 2000.

Alsante, M. K.; Ando, A.; Brown, R.; Ensing, J. ; Hatajik, T D.; Kong, W.; Tsuda, Y. The role of degradant profiling in active pharmaceutical ingredients and drug products. Advanced drug Delivery Reviews, v.59, p. 29-37, 2007

Anderson NH. Photostability testing: design and interpretation of tests on drug substances and dosage forms. In: Tønnesen HH, ed. Photostability of Drugs and Drug Formulations. Great Britain: Taylor & Francis, 1996:307.

Ahuja, S. Handbook of isolation and characterization of impurities in pharmaceuticals. Chiral Separation by Chromatography. Oxford. New York. 2000.

Baertschi, S. W. Pharmaceutical Stress Testing. Indianapolis: Informa Healthcare, 2005. 469 p.

Bakshi, M. , Singh, S. ICH Guidance in practice: stress degradation studies on metronidazole and development of validated stability-indicating HPLC assay method. Pharmaceutical Technology. 2003.

Basak, A.K. et al. Pharmaceutical impurities: Analytical, toxicological and regulatory perspectives. Advanced Drug Delivery Reviews. 59. 2007. pp 1- 2.

Boccardi, Giovanni; Oxidative Susceptibility Testing. In:Baertschi, Steven W; (Editor). **Pharmaceutical Stress Testing in Predicting Drug Degradation**. Indiana, USA,2008. Cap. 7, p.221-223.

Brummer H. How to approach a forced degradation study. **Technical bulletin**. 2011. Disponível em: <http://www.sgs.com/~media/Global/Documents/Technical%20Documents/SGS-LSS-Forced%20Degradation-EN-11.pdf>. Acesso em: 28/03/14.

Brasil. Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos [Internet]. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (citado em 03/2014)

Brasil. Resolução nº 45, de 9 de agosto de 2012. Guia para a realização de estudos de estabilidade. [Internet]. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (citado em 03/2014)

Brasil. Resolução nº 01, de 29 de julho de 2005. Guia para a realização de estudos de estabilidade. [Internet]. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (citado em 03/2014)

Brasil. Resolução nº 15, de 9 de Agosto de 2012. Guia para a realização de estudos de estabilidade. [Internet]. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (citado em 09/2016)

Brasil. Informe Técnico nº 01, de 15 de julho de 2008 - Esclarecimento sobre o item 2.9 do anexo da Resolução RE nº1 de 29/07/2005, que trata do Guia para realização dos estudos de estabilidade [Internet]. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (citado em 03/2014)

Brasil. Resolução nº 58, de 20 de dezembro de 2013. **estabelece parâmetros para notificação, identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos com substâncias ativas sintéticas e semissintéticas**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (citado em 04/2014)

Brasil. Resolução nº 53, de 4 de dezembro de 2015. Guia para regulamentação da notificação, identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos.. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (citado em 02/2016)

BRASIL. **Farmacopéia Brasileira**, Agencia Nacional de vigilância Sanitária. 5.ed. Brasília: ANVISA, 2010.

Brummer H. How to approach a forced degradation study. **Technical bulletin**. 2011.
Em:<http://www.sgs.com//media/Global/Documents/Technical%20Documents/SGS-LSS-Forced%20Degradation-EN-11.pdf>. Acesso em: 28/03/14.

Carvalho JP, Santos AS, Sá AS, Teixeira CS, Nogueira MS. Estabilidade de medicamentos no âmbito farmacológico. **Rev Farm Med**. 2005; 34(6):22-7.

EMEA. ICH Topic Q1A (R2), “Stability Testing of new drug substances and products”. ICH – International Conference on Harmonization: Londres, February 2003.

EMA, CHMP. Guideline on the limits of genotoxic impurities. June 28. London. 2006.

FDA, Guidance for industry: analytical procedures and method validation , August 2000.

Florence AT, Attwood D. Princípios físico-químicos em farmácia. 3.ed. São Paulo: Edusp; 2003. p. 711.

Farmacopeia Brasileira 5ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Fundação Oswaldo Cruz.; 2010. P. 570-2.

Florence AT, Attwood D. **Princípios físico-químicos em farmácia**. 3 ed. São Paulo: Edusp; 2003.

Gavin, P.F. & Olsen, B.A. A quality evaluation strategy for multi-sourced active pharmaceutical ingredient (API) starting materials. J. Pharm. Biomed. Anal. 2006. 41 (4).pp 1251–1259.

ICH, Q1B: Stability Testing: Photosatbility of new drug substance and products. 6 November 1996.

ICH Q1A(R2) guideline: StabilityTesting of New Drug Substances and Products (revision 2), International Conference on Harmonization. 2003.

ICH, Q3A(R2): Impurities in new drug substances. 25 October 2006.

ICH, Q3B(R2): Impurities in new drug products. 2 June 2006.

ICH, Q3C (R4): Impurities: Guideline for residual solvents. 2 February 2007.

Kaazakevich, Y. Lobrutto, R. HPLC for pharmaceutical scientists, Hoboken: John Wiley e Sons, 2007. P.491-502.

Lukulay, P.; Hokanson, G. Reconciling mass balance in forced degradation studies. Pharmaceutical Technology, v.29, n.10, p.526-523, 2009.

Melo SRO. **Produtos de degradação: regulamentação sanitária e proposta de monografia para qualificação**. Brasília, 2012.

Muehlen, E. Impurities in starting materials and drugs. Pharmazeut. Ind. 1992. 54 (10). pp 837–

Nageswara, R.R. et al. An overview of the recent trends in development of HPLC methods for determination of impurities in drugs, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. vol.33. 2003. pp335-377.

Nunes LCC, Soares Sobrinho JL, Lima AAN, Silva JL, Rolim Neto PJ. Câmara climática: estudo de caso. *Rev Bras Farm*. 2007; 88(3):137-40.

O'Donnel, P. In Remington: The science and practice of Pharmacy. Stability of pharmaceutical Products. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 21^o ed. 2005. 2393 p.

Qiu, F. et al. Identification of pharmaceutical impurities, *journal of liquid chromatography & related technologies*. vol.30. 2007. pp 877-935. 46.

Reynolds. D.W. et al. Available guidance and best practices for conducting forced degradation studies: *Pharmaceutical Technology*. 26. vol 2. 2002 48-54.

Sandor, G. Chemical and analytical characterization of related organic impurities in drugs, *Anal Bioanal. Chem*, vol.377. 2003. pp852-862.

Sehrawat, R.; Maithani, M.; Singh, R. Regulatory aspects in development of stability-indicating methods: a review. *Chromatographia*. v.72, p.1-6, 2010.

Singh S, Bakshi M. Guidance on conduct of stress tests to determine inherent stability of drugs. *Pharm Technol*. 2000; 24:1-14.

Singhal D, Curatolo W. Drug polymorphism and dosage form design: a practical perspective. *Adv Drug Deliv Rev*. 2004;56(3):335-47.

Silva, K.E.R et al. Modelos de avaliação da estabilidade de fármacos e medicamentos para a indústria farmacêutica. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**. 2009; 20(2): 129-135.

Stulzer HK, Silva MA. Estudo de estabilidade de grânulos revestidos e comprimidos contendo Captopril. *Acta Farm Bonaer*. 2006; 25(4):497-504.

Taborianski AM. Validação de métodos para análise e estudos de estabilidade de anti-retrovirais em preparações farmacêuticas [Dissertação] São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo; 2003.

Vehabovic M, Hadzovic S, Stambolic F, Hadzic A, Vranjes E, Haracic E. Stability of ranitidine in injectable solutions. *Int J Pharm.* 2003; 256:109–15.