

ESTUDO DE DEGRADAÇÃO FORÇADA (EDF): IMPORTÂNCIA, DIRETRIZES E ESTUDOS DE CASO

FORCED DEGRADATION STUDY (FDS): IMPORTANCE, GUIDELINES, AND CASE STUDIES

Henrique Pereira Do Carmo De Carvalho¹

Eduarda Batista Da Mata²

Danyel Carrara Santos³

Nicole Hernandez Tadeo Benitez⁴

Raquel Silveira Bertolucci⁵

Marcelle Souza Lima Machado⁶

RESUMO

O estudo apresentado busca compreender a importância e diretrizes dos Estudos de Degradação Forçada (EDF) aplicados no controle de qualidade de medicamentos, uma exigência regulatória da ANVISA para garantir a estabilidade e segurança desses produtos. Para tanto, foram realizadas revisões bibliográficas de artigos científicos, livros e normas vigentes, com enfoque nos guias internacionais e na legislação brasileira. A metodologia envolveu a análise de estudos de caso que aplicaram EDF, investigando a capacidade desses métodos de identificar produtos de degradação e avaliar a toxicidade de impurezas formadas. Os resultados indicam que o EDF é essencial para assegurar a robustez dos métodos analíticos e a confiabilidade dos produtos farmacêuticos, contribuindo para o desenvolvimento de medicamentos mais seguros e eficazes. A pesquisa reforça a necessidade de métodos analíticos críticos e normatizados que atendam aos critérios de estabilidade e segurança, essenciais para a indústria farmacêutica.

Palavras-chave: ANVISA; Degradação; Estudo de validação; Estabilidade; Impurezas.

¹ Graduando em andamento em Farmácia pela Universidade Anhembi Morumbi – Contato: henriqueccarvalho2@gmail.com.

² Graduanda em Farmácia pela Universidade Anhembi Morumbi – Contato: ebatistadamata@gmail.com.

³ Graduando em Farmácia pela Universidade Anhembi Morumbi – Contato: danyel360@gmail.com.

⁴ Graduanda em Farmácia pela Universidade Anhembi Morumbi – Contato: nicolehernandes25@gmail.com

⁵ Farmacêutica. Docente do curso de graduação da Universidade Anhembi Morumbi - Contato: raquel.bertoluci@ulife.com.br

⁶ Farmacêutica. Docente do curso de graduação da Universidade Anhembi - Contato: marcelle.machado@uol.com.br

ABSTRACT

The presented study aims to understand the importance and guidelines of Forced Degradation Studies (FDS) applied to pharmaceutical quality control, a regulatory requirement by ANVISA to ensure the stability and safety of these products. To this end, bibliographic reviews of scientific articles, books, and current standards were conducted, focusing on international guidelines and Brazilian legislation. The methodology involved analyzing case studies that applied FDS, investigating these methods' capacity to identify degradation products and assess the toxicity of formed impurities. The results indicate that FDS is essential to ensure the robustness of analytical methods and the reliability of pharmaceutical products, contributing to the development of safer and more effective medications. The research reinforces the need for critical and standardized analytical methods that meet stability and safety criteria, essential for the pharmaceutical industry.

Keywords: ANVISA; Degradation; Validation study; Stability; Impurities.

1. INTRODUÇÃO

A validação de um método analítico para análise de determinada propriedade físico-química em medicamentos e seu estudo de degradação forçada é uma exigência requerida pela ANVISA para garantir um método indicativo de estabilidade. Tal prática é realizada em indústrias farmacêuticas sempre quando há a criação de um novo fármaco, alterações na rota sintética ou mudança no fornecedor do insumo farmacêutico ativo (IFA) (BRASIL, 2017).

Dessa forma, esse trabalho busca apresentar um processo rotineiro no departamento de validação das farmacêuticas, onde a validação e a degradação devem ser conduzidas com raciocínio crítico. Como parte do controle de qualidade do medicamento é essencial o monitoramento de impurezas orgânicas (também chamadas de substâncias relacionadas ou SR) conforme legislação vigente, bem como seu nível de toxicidade (NAGESWARA; NAGARAJU, 2003). O método deve ser adequado para uso tanto na rotina do controle de qualidade de uma farmacêutica como em estudos de estabilidade (EE) e de degradação forçada (EDF), onde a formação de substâncias relacionadas é acompanhada no primeiro e desejada no segundo (BRASIL, 2015).

O EDF busca um perfil de degradação potencial (KATHAR et al, 2024), ou seja, expor o medicamento a condições extremas de fatores físicos (luz, calor e umidade) e química (ácido, base e oxidação) de forma a obter produtos de degradação, e espera-se que dentro desse perfil estejam contidas as impurezas obtidas em estudos de estabilidade acelerados e de longa duração (Figura 1).

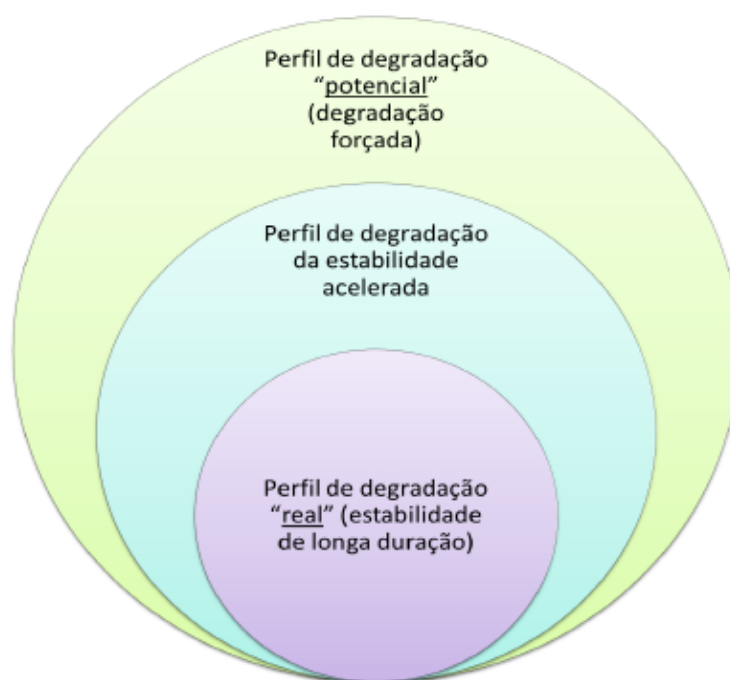


Figura 1. Comparativo entre diferentes perfis de degradação (BRASIL, 2015)

Sua execução pode ser dividida em 2 partes. A primeira etapa é a pesquisa bibliográfica, onde se estuda o ativo e excipientes usados para se obter informações norteadoras para o estudo, como interações IFA-excipientes, susceptibilidade do ativo a determinada degradação, lista de possíveis produtos de degradação, dentre outros. Todas as informações levantadas servirão para guiar e justificar os resultados da segunda etapa, a execução dos experimentos de degradação no medicamento, no IFA e no excipiente separadamente. Para isso também é necessário avaliar fatores analíticos como a compatibilidade entre degradante e amostra usada e possíveis interferências na quantificação (ZELESKY et al., 2023).

Um estudo de degradação forçada bem executado permite concluir se o método é indicativo de estabilidade (ou seja, se consegue medir o teor e impurezas durante todo o tempo de vida do produto sem interferência) e poder listar as impurezas que possivelmente serão formadas durante o estudo de estabilidade (BRASIL, 2015).

Portanto, apresentar o conceito e importância de degradação forçada, as principais leis e normas brasileiras sobre o assunto, as boas práticas de como conduzir um EDF, por meio de um levantamento da literatura científica sobre o assunto, e selecionar alguns estudos publicados para discutir se o estudo foi conduzido de acordo com a legislação brasileira, robustece a importância científica e regulatória de se realizar um EDF.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Define-se como degradação forçada, ou teste de estresse, um processo que envolve a degradação do IFA e medicamentos em condições mais severas do que as condições de estabilidade acelerada. Esse processo gera produtos de degradação que podem ser estudados para determinar a estabilidade da molécula e do produto (BLESSY et al., 2014). O estudo da degradação forçada é uma ferramenta útil para prever a estabilidade relacionada à pureza, potência e segurança de uma substância ou medicamento; em consequência, é importante conhecer o perfil e comportamento das impurezas de uma substância sob várias condições de estresse (SHARMA; MURUGESAN, 2017).

2.1. LEGISLAÇÃO VIGENTE

Para um medicamento ser comercializado no Brasil, este deve passar por alguns requisitos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), agência reguladora do governo federal responsável pelo controle sanitário de fármacos (ANVISA, 2021). Dentre eles, estão a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 166/2017 (BRASIL, 2017), que regulamenta

a validação de métodos analíticos, e a RDC 53/2015 (BRASIL, 2015), que traz bases para organizar e realizar um estudo de degradação forçada (EDF). Esses procedimentos garantem a confiabilidade dos resultados analíticos obtidos no uso do método analítico na análise de um fármaco, e o acompanhamento de produtos de degradação e possíveis efeitos na saúde humana, respectivamente. A tabela abaixo apresenta os tipos de impurezas passíveis de serem encontradas em medicamentos.

Tabela 1. Tipos de impurezas de produtos farmacêuticos. Adaptado de MISRA et al, 2015.

Solventes residuais	Impurezas inorgânicas	Impurezas orgânicas	Extraíveis e lixiviáveis
• Oriundos das rotas sintéticas de IFA e extrações • Análise por CG	• Impurezas elementares (metais) • Análise por ICP-OES ou ICP-MS	• Subprodutos de rotas sintéticas de IFA (compostos relacionados) • Impurezas geradas durante a produção do produto acabado • Produtos de degradação gerados durante o prazo de validade do produto devido ação da luz, oxidação, hidrólise etc.	• Materiais de embalagem • Análise por cromatografia

A RDC 166/17 descreve critérios para uma adequada validação analítica, que é o processo para demonstrar que um método analítico é adequado para seu uso (MARSON et al, 2020; ICH, 2006b). Para isso, é necessário o uso de equipamentos calibrados e substâncias químicas de referências adequadas. A norma discorre sobre que parâmetros devem ser avaliados em cada tipo de teste (análise de substâncias relacionadas, teste de dissolução), que tipos de padrões utilizar, como proceder a avaliação e o tratamento estatístico exigido (BRASIL, 2017).

Para essa validação, os critérios avaliados serão: seletividade (capacidade de identificar e quantificar o analito de interesse na presença da matriz), linearidade (capacidade de obter respostas proporcionais a concentração do analito na amostra), precisão (proximidade entre resultados analíticos obtidos por ensaios), exatidão (diferença entre resultados obtidos e o valor tido como verdadeiro), limite de quantificação (menor quantidade do analito em amostra quantificável) e robustez (capacidade do método de resistir pequenas e deliberadas variações

de condições analíticas). A figura abaixo apresenta o exemplo de preparo de uma linearidade, onde se faz diluições sucessivas de uma solução estoque.

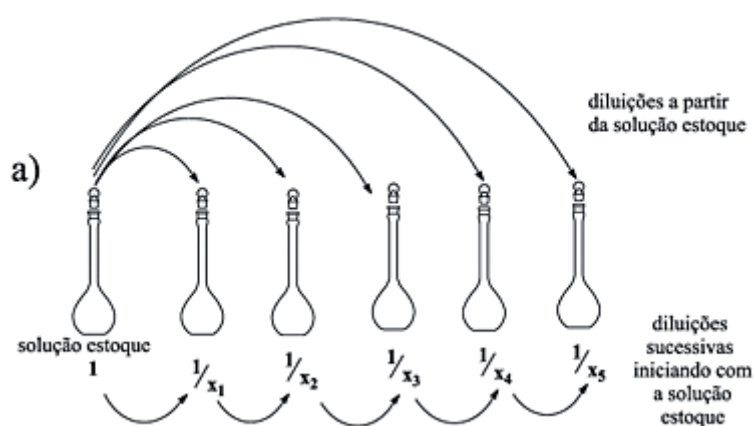


Figura 2. Exemplo de preparo de soluções para linearidade (RIBANI, 2004).

A RDC 53/15 descreve os requisitos para um estudo do perfil de degradação, para quais produtos se aplica, quais condições de estresse devem ser utilizadas, extensão de degradação exigida e valores indicativos para limite de notificação, identificação e qualificação dos produtos de degradação. Esse estudo busca ser um guia para o acompanhamento dos produtos de degradação, sendo que esses podem apresentar toxicidade ou causar ineficácia terapêutica (BRASIL, 2015). Esse estudo, em conjunto com um estudo de estabilidade, é necessário para se provar que o método analítico é um Método Indicativo de Estabilidade, ou seja, capaz de identificar e quantificar os produtos de degradação do fármaco (FACCI, 2020), sem interferência dos produtos obtidos após deliberado estresse da amostra.

Antes de iniciar a parte prática do EDF, é recomendado fazer uma pesquisa bibliográfica prévia em artigos científicos, compêndios oficiais e no DMF (Drug Master File, ou Arquivo Mestre do Fármaco), buscando avaliar a susceptibilidade do medicamento a degradações de acordo com seus grupos funcionais e com os excipientes presentes (BRASIL, 2015). Essa pesquisa servirá como um guia para as degradações, sugerindo condições como tempo de

degradação e concentração do degradante. A figura abaixo apresenta duas possíveis rotas de degradação do princípio ativo brinzolamida (BRITTAIN, 1999), um redutor de pressão intraocular para glaucoma (CROXTALL; SCOTT, 2009).

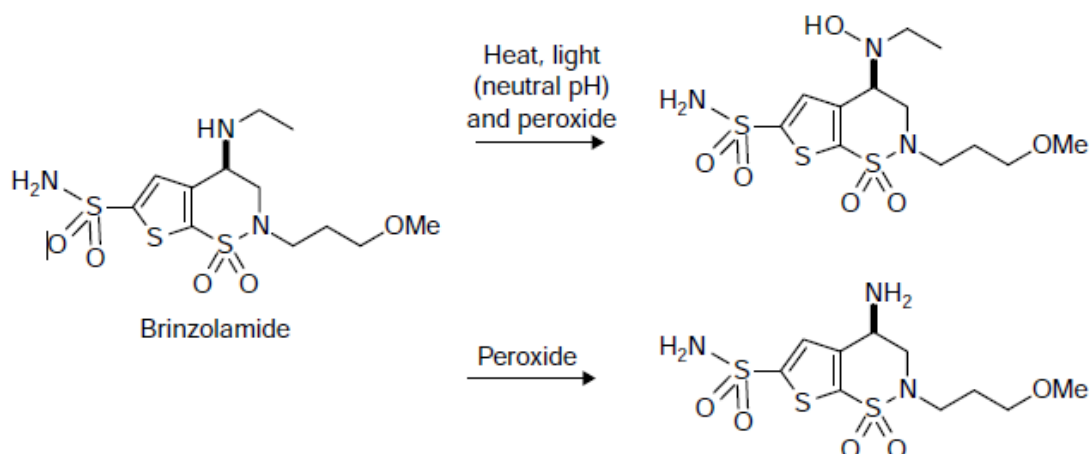


Figura 3. Rotas de degradação do fármaco Brinzolamida (CROXTALL, J. D.; SCOTT, L. J.)

Feito o levantamento e estabelecido o racional do estudo e reagentes a serem utilizados no EDF, o fármaco será exposto a condições de estresse físico (calor, umidade e luz) e químico (ácido, base, oxidante e íons metálicos) e realizada a análise de doseamento e SR para verificar a queda do teor de do medicamento e a formação de impurezas conhecidas ou inespecíficas. No caso do estresse químico, pode-se ajustar a concentração ou tempo de ação do degradante de forma a obter uma degradação dentro da faixa limite, de forma a evitar a formação de produtos secundários caso a mesma se estenda muito (BAERTSCHI; ALSANTE; REED, 2011).

Após a exposição do fármaco em cada condição de degradação, é feita a quantificação do teor do produto degradado e um sem degradação (amostra controle) para se avaliar a queda do teor de substância ativa na degradação do medicamento. A legislação vigente recomenda uma degradação mínima de 10% evitando a formação de produtos de degradação secundários (BRASIL, 2015). Caso ocorra uma degradação acentuada ou total, recomenda-se atenuar a concentração do degradante e/ou seu período de ação.

Na etapa seguinte, quantifica-se a somatória de produtos de degradação pela soma dos valores individuais descontados dos valores obtidos de impurezas da amostra controle. Por fim, o balanço de massas deve ser calculado pela comparação entre a queda do teor frente à soma das impurezas encontradas e quantificadas. Todo o racional utilizado no estudo deve ser cientificamente discutido e justificado.

2.2. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA COM DETECTOR DAD

A validação será conduzida com um cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC, ou CLAE em português) acoplado a um detector de arranjo de diodos (PDA, ou DAD), sendo o analito de interesse separado a partir da interação entre duas fases: móvel, composto por um solvente ou mistura de solventes, e a fase estacionária, representada pela coluna cromatográfica empacotada com sílica (Figura 5). O equilíbrio de interação entre as fases fará os componentes da mistura serem separados e eluídos em tempos diferentes, de forma que cada composto terá seu tempo de retenção (LOZANO-SÁNCHEZ, 2018).

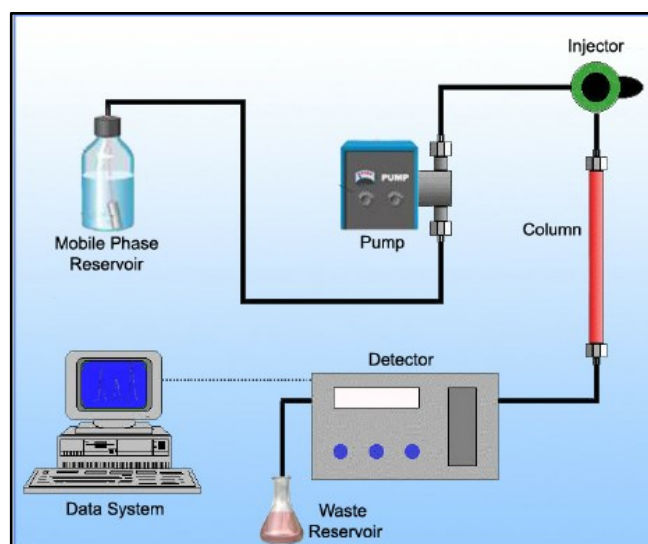


Figura 4. Esquema de um sistema HPLC (KIMURA; RODRIGUEZ-AMAYA, 2002).

Os detectores do tipo UV-Vis são responsáveis pela detecção e quantificação do analito, se destacando por serem de baixo custo e aplicáveis para uma gama enorme de moléculas, sendo apenas necessário que as mesmas contenham grupos cromóforos capazes de absorver radiação na região do ultravioleta-visível (CHEN, 2022). Assim, o sinal analítico gerado será proporcional à concentração do analito, permitindo sua quantificação.

A importância do uso de detectores PDA é sua capacidade de realizar leituras em múltiplos comprimentos de onda durante uma análise em fluxo, diferente de um detector do tipo VWD. Isso permite o desenvolvimento de métodos analíticos com monitoramento de múltiplas moléculas com um comprimento de onda para cada, permitindo que se utilize a configuração de máxima sensibilidade para a análise, e a avaliação da pureza de pico na eluição de um analito (CHEN, 2022).

O teste de pureza de pico permite avaliar se o pico cromatográfico é atribuído a um ou vários componentes, o que pode indicar coeluição de substâncias. Esse teste é realizado extraindo o espectro UV do ápice do pico e comparando-o com os outros pontos do pico. Um espectro similar em todos os pontos indica pureza de pico e garante o “pertencimento” da substância ao pico cromatográfico. A determinação de pureza cromatográfica é aceita pela ANVISA (BRASIL, 2017) e por órgãos internacionais (ICH, 2005) como garantia de que o sinal cromatográfico advém exclusivamente do analito.

3. MÉTODO

Esta revisão literária foi realizada em bases de dados eletrônicas e busca manual em periódicos entre os meses de agosto a outubro de 2024. Os critérios de elegibilidade dos artigos foram caracterizados como: ser um artigo original de pesquisa que utilizou a degradação forçada (EDF). Os textos completos elegíveis em inglês, português ou espanhol foram considerados para revisão. Teses e dissertações não foram incluídas.

A presente revisão foi realizada com o objetivo de validação de um método analítico para análise de determinada propriedade físico-química em medicamentos e seus estudos de

degradação forçada (EDF), com bases em dados eletrônicos e artigos científicos com periodicidade de cinco anos.

Os critérios utilizados para aptidão das informações utilizadas foram: ser um artigo original retirado de algum site de confiança educacional ou profissional, revistas analíticas, resoluções da diretoria colegiada (RDC) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), protocolos sobre o estudo da degradação forçada e ensaios clínicos randomizado ou estudos clínicos randomizado controlado em humano publicado em revista indexada, que ratificou a importância do estudo de degradação forçada (EDF), para confirmar a estabilidade de um insumo farmacêutico ativo (IFA) e do seu respectivo produto finalizado. Texto e artigos completos e elegíveis em inglês também foram considerados.

Quadro 1. Estratégia de busca desenvolvida para a seleção dos estudos disponíveis no Medline (via PubMed) relacionados degradação forçada

Forced[All Fields] AND ("metabolism"[Subheading] OR "metabolism"[All Fields] OR "degradation"[All Fields] OR "metabolism"[MeSH Terms])
--

Para SciELO a estratégia de busca utilizada foi desenvolvida com os descritores: degradação forçada, com o filtro tipo de literatura artigo. Os mesmos descritores foram utilizados na COCHRANE: Forced Degradation como estratégia de busca.

3.1. SELEÇÃO DOS ARTIGOS

Uma análise inicial foi realizada com base nos títulos e resumos dos artigos que preenchiam os critérios de inclusão ou que não permitiam se ter certeza de que deveriam ser excluídos. Após a análise dos títulos e resumos, todos os artigos selecionados foram obtidos na íntegra e posteriormente examinados de acordo com os critérios de inclusão estabelecidos. Todos os processos de seleção e avaliação de artigos foram realizados por pares independentes

(H.P.C.C, N.H.T.B. e M.S.L.M). Não houve caso de dúvida ou discordância. Não houve caso de identificação de mais de uma publicação de um mesmo estudo.

3.2. EXTRAÇÃO DOS DADOS

Para a extração dos dados, elaborou-se uma planilha eletrônica na qual foram registradas informações sobre: autores, país, ano, título, delineamento do estudo, intervenções, desfecho.

4. RESULTADOS

Foram identificados 194 artigos. Após leitura do título e resumo, excluiu-se 188 artigos por não cumprirem os critérios de inclusão. Diversos foram os motivos para exclusão dos 188 artigos: Ausência da relação com degradação forçada, tema relacionado à força de amplitude mecânica e degradação de proteína. Totalizando 6 artigos para elegibilidade, os quais foram resgatados em textos completos para inclusão desta revisão literária. Na Figura 5, um fluxograma resume o resultado obtido. A seguir, cada um dos seis artigos será brevemente apresentado.

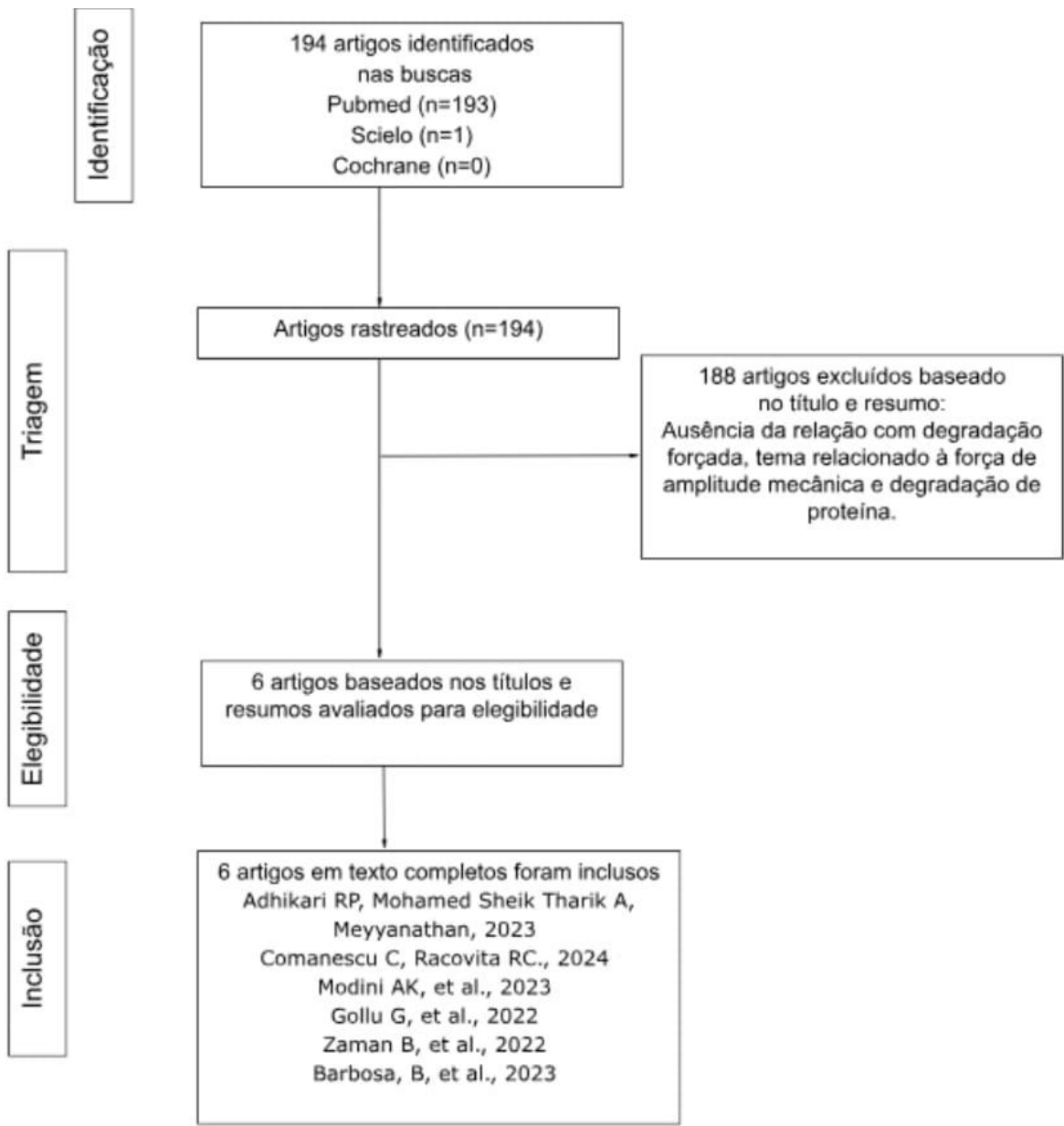


Figura 5. Fluxograma de identificação e seleção dos estudos sobre degradação forçada (AUTORES, 2024).

A tabela a seguir resume os principais artigos pesquisados sobre EDFs e considerados para o levantamento bibliográfico.

Tabela 2. Caracterização dos seis artigos que atenderam os critérios de inclusão para revisão

Autores	País	Ano	Objetivo	Delineamento do estudo	Intervenções/Achados	Desfecho
Adhikari RP, Mohamed STA, Meyyanathan SN.	Índia	2023	Revisar EDFs de medicamentos antiepilépticos e discutir o desenvolvimento de métodos analíticos validados que demonstram estabilidade sob condições mais severas	Revisão sistemática de estudos experimentais	Discussão sobre técnicas e diretrizes para a degradação forçada	Oferece orientações para pesquisadores sobre desenvolvimento e validação de métodos indicativos de estabilidade para medicamentos antiepilépticos
Comanescu C, Racovita RC.	Romênia	2024	Fornecer uma visão geral das estratégias de degradação da amitriptilina	Revisão sistemática de estudos experimentais	Sugere que inovações em tecnologias de formulação têm um grande potencial para melhorar a estabilidade, eficácia e segurança dos antidepressivos.	A revisão aborda as rotas químicas de degradação de amitriptilina, e analisa como considerações de formulações e embalagem podem melhorar a estabilidade
Modini AK, et al.	Índia	2022	Identificar, isolar e caracterizar estruturalmente produtos da DF do darunavir	Estudo experimental laboratorial	Utilização de técnicas analíticas para a identificação e caracterização dos produtos de degradação do darunavir	Os resultados ampliaram o entendimento sobre a estabilidade do darunavir
Gollu G, et al.	Índia	2021	Realizar um estudo de degradação forçada do zanubrutinibe e desenvolver um método analítico por cromatografia líquida	Estudo experimental laboratorial	Um método de HPLC foi desenvolvido e validado para a separação do zanubrutinibe em uma coluna C18	O método desenvolvido foi eficaz na quantificação do zanubrutinibe e na caracterização de seus produtos de degradação

Zaman B, et al.	Colab. internacional	2022	Desenvolvimento e validação de um método de HPLC-UV para análise do Velpatasvir	Estudo experimental laboratorial	O estudo revelou que o fármaco é suscetível à hidrólise tanto em condições ácidas quanto alcalinas	A análise permitiu identificar e quantificar os produtos de degradação formados
Barbosa B, et al.	Brasil	2021	Obter o registro e liberação para comercialização	Estudo experimental laboratorial	Desenvolver um método de estabilidade-indicador (SIM) para o fosfato de oseltamivir	O método de SIM validado foi capaz de detectar e quantificar cerca de vinte produtos de degradação

O artigo de ADHIKARI et al, 2023 descreve estudos de degradação forçada (EDF) de medicamentos antiepiléticos, como Topiramato, Vigabatrina, Lacosamida, Tiagabina, Levetiracetam e Zonisamida, usados para tratar epilepsia. Ele descreve os parâmetros de análise dos métodos (como os de cromatografia líquida acoplada a detectores UV ou a espectrômetros de massas), as condições degradantes utilizadas como hidrólise ácida e básica, oxidação, calor e fotólise. Por fim, o artigo faz uma avaliação da sensibilidade e rapidez na obtenção dos resultados dos métodos analíticos, bem como do seu potencial de ser indicativo de estabilidade.

Já a publicação de COMANESCU, RACOVITA, 2024 descreve um estudo de degradação forçada do medicamento amitriptilina, que é utilizado principalmente para o tratamento de transtornos mentais, como a depressão e, em alguns casos, para dor crônica e enxaqueca. Utilizando o equipamento HPLC, o estudo investigou diferentes tipos de degradação, incluindo oxidação, hidrólise e fotodegradação, além de avaliar as rotas de degradação e o impacto ambiental desses processos.

MODINI et al, 2022 executou um estudo de degradação forçada do medicamento Darunavir, que é utilizado principalmente no tratamento da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e, mais recentemente, também no tratamento da COVID-19. Utilizando técnicas analíticas avançadas, incluindo UPLC-MS (Cromatografia Líquida de Ultra

Performance acoplada à Espectrometria de Massas), o estudo investigou a degradação do fármaco sob condições de hidrólise ácida e básica, além de condições térmicas, oxidativas e fotolíticas, seguindo as diretrizes do ICH Q3B. Cinco produtos de degradação foram identificados, com foco em sua caracterização estrutural usando RMN (Ressonância Magnética Nuclear) e FTIR (Espectrofotometria de infravermelho por Transformada de Fourier).

O objetivo de GOLLU et al, 2022 é fazer o desenvolvimento e validação de um novo método de HPLC para quantificação de Zanubrutinibe, um medicamento utilizado no tratamento de linfoma de células do manto (LCM). O estudo seguiu as diretrizes do ICH Q3B e utilizou uma coluna C18 para a separação cromatográfica, com uma fase móvel composta por acetonitrila e trietilamina, monitorada a 219 nm. Os testes de degradação foram realizados sob diversas condições, incluindo ácido, base, oxidação, redução, fotólise e calor. Observe-se que o Zanubrutinibe se degrada em condições ácidas, alcalinas, oxidativas e redutivas, mas se encontra estável em condições neutras, fotolíticas e térmicas. O método também foi complementado por espectrometria de massa para identificar os produtos de degradação gerados durante os testes, resultando na caracterização de quatro diferentes degradantes.

O estudo de ZAMAN et al, 2022 busca descrever o desenvolvimento e validação de um método de HPLC-UV para análise do Velpatasvir, utilizado no tratamento da hepatite C, e avaliar seus produtos de degradação. Os testes de degradação forçada seguiram as diretrizes do ICH Q3B e foram realizados em condições alcalinas, ácidas, oxidativas, térmicas e sob exposição à luz. O método desenvolvido foi capaz de separar o fármaco e oito produtos de degradação usando uma coluna C18 e eluição com trifluoroacético e metanol. A detecção foi feita em 305 nm. Foram avaliados parâmetros como precisão, especificidade e linearidade, comprovando que o método é confiável para a análise de impurezas e produtos de degradação tanto no Velpatasvir quanto na sua dispersão sólida com copovidona.

BARBOSA et al, 2022 optou por estudar o fosfato de oseltamivir, usado no tratamento da gripe, especialmente durante o surto de H3N2 no Brasil em 2021. Foram realizados testes de degradação forçada do insumo farmacêutico ativo (IFA) e do produto final (DP), desenvolvendo um método indicativo de estabilidade (MIE). O IFA e o DP apresentaram maior

degradação em meio básico (23%) e geraram 18 produtos de degradação na oxidação com peróxido de hidrogênio. A análise LC-MS/MS (Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas) compreende os principais produtos de distribuição, e o método validado foi capaz de quantificar cerca de 20 desses produtos, garantindo a segurança e eficácia do medicamento.

4. DISCUSSÃO

O Conselho Internacional para Harmonização e Requisitos Técnicos para Produtos Farmacêuticos para Uso Humano (ICH), classifica a impureza como qualquer componente que não seja uma entidade química definida como um ingrediente farmacêutico ativo ou excipiente. As diretrizes ICH Q3A, Q3B e Q3C são utilizadas para categorizar as impurezas: inorgânicas, orgânicas e solventes residuais. Por meio das diretrizes são apresentadas para submissão de registro, sobre o conteúdo e a classificação de impurezas, mapeadas enquanto o processo de fabricação e estudos de estabilidade da medicação (ICH 2006a; ICH 2006b; ICH 2024; JUNIOR; CARNEIRO, 2019).

A substância em grande quantidade presente na medicação que não faz parte da formulação do medicamento é considerada como impureza. A eficácia, qualidade e segurança dos medicamentos são estabelecidas pelos perfis farmacológicos e toxicológicos, visto que, diante da quantidade de impurezas o paciente pode apresentar danos à saúde (SANTOS; CASTRO, 2020).

O recurso de degradação forçada (ou teste de estresse), estabelece etapas importantes no desenvolvimento de medicações, através desses processos é possível compreender os mecanismos envolvidos, o potencial de degradação sob condições extremas e garantir a estabilidade dos medicamentos de forma ágil. Mediante os resultados apresentados, são utilizados para determinar a estabilidade química, compatibilidade de excipientes, conformidade de excipientes e desenvolvimento de métodos analíticos (JUNIOR; CARNEIRO, 2019):

- Para obter o potencial de degradação potencial de um IFA (Insumo Farmacêutico Ativo) ou produto medicamentoso;
- Descobrir o mecanismo de degradação, como hidrólise, termólise, oxidação, fotólise, etc.;
- Para elucidar a estrutura molecular do produto de degradação;
- Para resolver problemas relacionados à estabilidade da IFA ;
- Identificar as condições em que o IFA ou o medicamento são mais suscetíveis à degradação, a fim de garantir a qualidade do produto final, trazendo à indústria farmacêutica conhecimento suficiente para desenvolvimento, embalagem, fabricação, manipulação e armazenamento;
- Para obter formulações mais estáveis;
- Desenvolver métodos analíticos que possam ser utilizados para quantificar o IFA sem interferência de seus produtos de degradação e quantificar esses produtos de degradação.

Ao analisar as orientações regulatórias e literatura científica é possível identificar que é necessário aprimorar para regulamentar as últimas etapas dos experimentos, pois existem questões levantadas sobre a veracidade das justificativas que estabelece se a amostra atingiu a estabilidade da substância.

Ao revisar os artigos, os autores propõem duas formas de estabelecer a última etapa, sendo a primeira etapa: Análise da porcentagem da degradação total, isto é, para drogas reativas. Segunda etapa: quantificar as vezes em que a amostra foi submetida ao estresse, processo voltado para drogas estáveis (CHEW, KHOR, LIM, 2023).

Mediante a classificação será possível garantir que todas as etapas de degradação relevantes foram realizadas de modo adequado. Por meio da literatura, identificamos que há estudos que apresentam estratégias mais robustas para submissão regulatória, viabilizando a compreensão sólida dos processos de degradação para as indústrias farmacêuticas. (ZELESKY et al, 2023).

5. CONCLUSÃO

Esse documento busca ser um guia de como realizar estudos de degradação forçada. Tais estudos fornecem informações e conhecimento sobre possíveis mecanismos de degradação e as impurezas formadas na degradação do IFA, ajudam a elucidar a estrutura dos degradantes.

O ensaio de indicação de estabilidade é obrigatório em todos os estudos de degradação forçada, no entanto, nenhum ensaio de indicação de estabilidade pode se encaixar perfeitamente em todos os estudos de estabilidade de medicamentos. A seleção e adequação da técnica dependem das propriedades químicas dos medicamentos e das impurezas.

6. REFERÊNCIAS

ADHIKARI, R. P.; THARIK, A. M. S.; MEYYANATHAN, S. N. Mini review on forced degradation studies on anti-epileptic drugs and beyond. **Journal of chromatographic science**, v. 61, n. 6, p. 585–604, 2023.

ANVISA. Institucional - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília, 2021. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/acessoainformacao/institucional>>. Acesso em: 15 de setembro de 2024.

BAERTSCHI, S.W.; ALSANTE, K.M.; REED, R.A. **Pharmaceutical Stress Testing: Predicting Drug Degradation**. 2ª Ed. Nova York: Informa Healthcare, 2011.

BARBOSA, B. C. et al. Estudo de Degradação Forçada, Desenvolvimento e Validação de um Método Indicador de Estabilidade para Cápsulas de Fosfato de Oseltamivir de Acordo com as Regras da Anvisa. **Revista Analytica**, ano 21, n. 127, p. 18-28, nov. 2023

BLESSY, M. et al. Development of forced degradation and stability indicating studies of drugs—A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 4, n. 3, p. 159–165, 1 jun. 2014.

BRASIL. Resolução de Diretoria Colegiada nº 53, de 04 de dezembro de 2015. 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 dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 07 dez. 2015. Disponível em:

<http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3295768/%281%29RDC_53_2015_COMP.pdf/d38f507d-745c-4f6b-a0a6-bd250f2e9892>. Acesso em: 15 de setembro de 2024.

BRASIL. Resolução de Diretoria Colegiada nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 25 jul. 2017. Disponível em: <https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/19194581/do1-2017-07-25-resolucao-rdc-n-166-de-24-de-julho-de-2017-19194412>. Acesso em: 15 de setembro de 2024.

BRITAIN H.G. Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients. Vol 26, San Diego:Academic, 1999: 86.

CHEW, Y.-L.; KHOR, M.-A.; LIM, Y.-Y. Choices of chromatographic methods as stability indicating assays for pharmaceutical products: A review. **Heliyon**, v. 7, n. 3, p. e06553, 2021.

CHEN, J. C. et al. High-performance liquid chromatography–diode array detection combined with chemometrics for simultaneous quantitative analysis of five active constituents in a Chinese medicine formula Wen-Qing-Yin. **Chemosensors (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 7, p. 238, 2022.

COMANESCU, C.; RACOVITA, R. C. An overview of degradation strategies for amitriptyline. **International journal of molecular sciences**, v. 25, n. 7, p. 3822, 2024.

CROXTALL, J. D.; SCOTT, L. J. Brinzolamide/timolol: In open-angle glaucoma and ocular hypertension. **Drugs & aging**, v. 26, n. 5, p. 437–446, 2009.

FACCI, J. et al. Evolução da legislação e das técnicas analíticas aplicadas a estudos de estabilidade de insumos e produtos farmacêuticos. **Química nova**, 2020.

GOLLU, G. et al. Forced degradation study of zanubrutinib: An LC-PDA and LC-MS approach. **Journal of chromatographic science**, v. 60, n. 9, p. 807–816, 2022.

KATHAR, N. et al. Potential degradation products of abemaciclib: Identification and structural characterization employing LC-Q/TOF-MS and NMR including mechanistic explanation. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 237, n. 115762, p. 115762, 2024.

ICH. International conference on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. **ICH harmonized tripartite guideline. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1)**, 2005. 17p. Disponível em: <<https://database.ich.org/sites/default/files/Q2%28R1%29%20Guideline.pdf>>. Acesso em: 15 de setembro de 2024.

ICH. International conference on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. **Impurities In New Drug Substances Q3A(R2)**, 2006a. 15p. Disponível em:

<<https://database.ich.org/sites/default/files/Q3A%28R2%29%20Guideline.pdf>>. Acesso em: 15 de setembro de 2024.

ICH. International conference on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. **Impurities In New Drug Substances Q3B(R2)**, 2006b. 51p. Disponível em:

<<https://database.ich.org/sites/default/files/Q3B%28R2%29%20Guideline.pdf>>. Acesso em: 15 de setembro de 2024.

ICH. International conference on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. **ICH Q3C (R9) Guideline on impurities: guideline for residual solvents**, 2024. 17p. Disponível em:

<https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q3c-r9-guideline-impurities-guideline-residual-solvents-step-5_en.pdf>. Acesso em: 15 de setembro de 2024.

JUNIOR, B. R. A.; CARNEIRO, R. L. Chemometrics approaches in forced degradation studies of pharmaceutical drugs. **Molecules**, v. 24, n. 20, p. 3804, 2019.

KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. **Food chemistry**, v. 78, n. 3, p. 389–398, 2002.

LOZANO-SÁNCHEZ, J. et al. Chromatographic technique: High-performance liquid chromatography (HPLC). Em: **Modern Techniques for Food Authentication**. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 459–526.

MARSON, B. et al. Validation of analytical methods in a pharmaceutical quality system: An overview focused on HPLC methods. **Química nova**, 2020.

MISRA, B. et al. Pharmaceutical Impurities: A Review. **International journal of pharmaceutical chemistry**. [s.l.] Scholar Science Journals, 2015.

MODINI, A. K. et al. Identification, isolation, and structural characterization of novel forced degradation products of Darunavir using advanced analytical techniques like UPLC-MS, prep-HPLC, HRMS, NMR, and FT-IR spectroscopy. **Chromatographia**, v. 86, n. 1, p. 63–78, 2022.

NAGESWARA R.; NAGARAJU, V. An overview of the recent trends in development of HPLC methods for determination of impurities in drugs. **Journal of pharmaceutical and**

biomedical analysis, v. 33, n. 3, p. 335–377, 2003.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química nova**, v. 27, n. 5, p. 771–780, 2004.

SANTOS, J. R. B.; CASTRO, P. S. G. Perfil de seleção e consumo de medicamentos em uma instituição de ensino superior: diagnóstico situacional para promoção da saúde. **Physis (Rio de Janeiro, Brasil)**, v. 30, n. 4, 2020.

SHARMA, M. K.; MURUGESAN, M. Forced Degradation Study an Essential Approach to Develop Stability Indicating Method. **Journal of Chromatography & Separation Techniques**, v. 08, n. 01, 2017.

ZAMAN, B. et al. Forced degradation studies and development and validation of HPLC-UV method for the analysis of Velpatasvir copovidone solid dispersion. **Antibiotics (Basel, Switzerland)**, v. 11, n. 7, 2022.

ZELESKY, T. et al. Pharmaceutical forced degradation (stress testing) endpoints: A scientific rationale and industry perspective. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 112, n. 12, p. 2948–2964, 2023.