

Diskuze

Nečistoty původně nalezené v léčivých přípravcích od roku 2018 byly jednoduché nitrosaminové sloučeniny, jako jsou NDMA a NDEA. Ty se mohou vyskytnout zejména při výrobě účinných látek a obvykle je lze eliminovat změnami ve výrobním procesu. V průběhu dalších analýz byly identifikovány složitější sloučeniny typu nitrosaminů (NDSRIs) jak v hotových léčivých přípravcích, tak ve farmaceutických substancích (Active Pharmaceutical Ingredient, API). Existuje řada potenciálních příčin vzniku těchto nečistot. Mohou vznikat při výrobě nebo následném skladování léčivých přípravků, například když API reagují se stopovými dusitany v pomocných látkách. Jaké jsou hlavní příčiny kontaminace léčivých přípravků nitrosaminy? Tyto příčiny můžeme klasifikovat takto:

- Výroba farmaceutických substancí
 - Nitrosací činidla, včetně dusitanu sodného, kyseliny dusité, anhydridu kyseliny dusné a nitrosylhalogenidů, mohou pocházet z recyklovaných rozpouštědel nebo opětovně použitých katalyzátorů z různých procesů nebo napříč výrobními linkami s nedostatečnou kontrolou a nevhodným monitorováním.
 - Specifické reakční podmínky v přítomnosti určitých surovin a výchozích sloučenin.
 - Kontaminované suroviny, recyklovaná rozpouštědla (dimethylformamid).
 - Nesprávná optimalizace výrobních procesů pro API, tj. nevhodné nebo špatně kontrolované reakční podmínky z hlediska teploty, pH nebo pořadí, v jakém jsou činidla, meziproducty nebo rozpouštědla přidávány, může také vést k tvorbě nitrosaminových nečistot.
- Výroba léčivých přípravků
 - Nestabilita API vůči zevním faktorům (zvýšená teplota, vlhkost, kyselé prostředí, délka skladování).
 - Další příčinou může být nevhodně zvolená metoda čištění výrobních linek. NDMA je vedlejším produktem ozonizace a chlóraminace.
 - Rizika během výroby a adjustace léčivého přípravku, např. reakce sekundárních aminů v tiskařských barvách s určitými nitrocelulóзовými laky nebo potahovými materiály při zahřátí.
 - Nitrosaminy vznikající při výrobě léčivého přípravku je téměř nemožné z léčivého přípravku odstranit, na rozdíl od situace při výrobě API s více fázemi syntézy a s následnými purifikačními kroky.
 - V létě 2023 upravily lékové autority (EMA či FDA) své pokyny pro eliminaci nečistot typu nitrosaminů v léčivých přípravcích. Tyto pokyny zavádějí model hodnocení rizik založený na chemických strukturních vlastnostech (Carcinogenic Potency Categorization Approach, CPCA), aktualizují přijatelné dávky (Acceptable Intake, AI) nitrosaminů v léčivých přípravcích. Do té doby používaná standardní zkouška mutagenity (Amesova zkouška) byla rozšířena s cílem dále zlepšit citlivost předchozí metody a přizpůsobit ji vlastnostem určitých nitrosaminů a je také popsána ve zmíněných pokynech jako vylepšený Amesův test (Enhanced Ames

Test, EAT). Účelem je stanovení přípustného příjmu nitrosaminů, u kterých dosud nebyl definován (17, 18).

Analytické metody

Z analytického hlediska představují nitrosaminy poměrně složitý problém, vyžadují velmi citlivé metody s vysokou specificitou. Analýza se potýká s tím, že se jedná o hodně malé molekuly, může docházet k falešně pozitivním výsledkům v přítomnosti jiných nečistot (dimethylformamid), vzorky API mohou být nestabilní při vyšší teplotě a uvolňovat N-nitrosamin (ranitidin při analýze plynovou chromatografií) (19) a k tomu všemu se jedná o stopovou analýzu v jednotkách ppb (miliardtin) nebo i nižších. Vhodné metody je tedy nutné hledat mezi těmi nejlepšími, co má farmaceutická analýza k dispozici. Evropský lékopis (potažmo i Český lékopis) reaguje na potřebu zkoušení nitrosaminů a v roce 2022 zavedl kapitolu 2-5-42 N-nitrosaminy v léčivých látkách, kde je popsána analýza 7 nitrosaminů v 5 API ze skupiny sartanů. 3 lékopisné metody využívají kapalinovou chromatografii s hmotnostní detekcí s trojitým kvadrupólem nebo plynovou chromatografií opět s hmotnostní detekcí s jednoduchým nebo trojitým kvadrupólem. Častý lékopisný limit pro příbuzné látky bývá 0,1 % (tj. 1 mg nečistoty v 1 g API). Limit pro nitrosaminy u sartanů je 30 ppb (tj. leží více než 33 000x níže, tj. 1 mg nečistoty v 33 kg API). Obdobné statě najdeme i v United States Pharmacopeia.

Amesův test

Roku 1973 Bruce Ames a jeho spolupracovníci na University of California v Berkeley navrhli test pro detekci mutageny indukované chemikáliemi (20) a dále jako screenig genotoxicity, tedy zda má studovaná látka potenciál indukovat poškození DNA (21). Amesův test je stále jedním z nejčastěji používaných krátkodobých testů pro testování mutagenity chemických sloučenin, a tedy i léčiv.

Závěr

Přítomnost nitrosaminů v léčivech či uvolňování nitrosaminů z léčiv je pro pacienty závažným rizikovým faktorem zejm. z hlediska vzniku nádorových onemocnění. Je nezbytné zajistit, aby výrobci a příslušné orgány usilovali o zavedení co nejprísnejší kontroly přítomnosti nitrosaminů v léčivech a zároveň minimalizovali možnosti jejich výskytu jak během jejich výroby, tak v hotovém léčivém přípravku. Bylo navrženo a zavedeno několik preventivních opatření pro predikci a řízení podezření na kontaminaci nitrosaminy nebo potenciálními mutagenními nečistotami ve farmacii. Kontrola kvality léčiv v průběhu výrobních procesů samotnými výrobci je nezbytná pro sledování a snižování rizik potenciální tvorby nečistot, aby se předcházelo pozdějšímu finančně nákladnému stahování léků z trhu. Na druhé straně je však důležité si uvědomit, že případné stažení léčivého přípravku z trhu je signálem, že „systém funguje“ a že dříve neidentifikované a neobjevené zdroje kontaminace, jako jsou nitrosaminy, jsou nyní detekovány a z klinické praxe včas eliminovány, což pomáhá vylepšovat bezpečnost farmakoterapie. Bezpečnost pacientů je prvořadou prioritou, farmaceutický průmysl a regulační orgány musí zajistit, aby léky byly nejen účinné, ale i bezpečné.