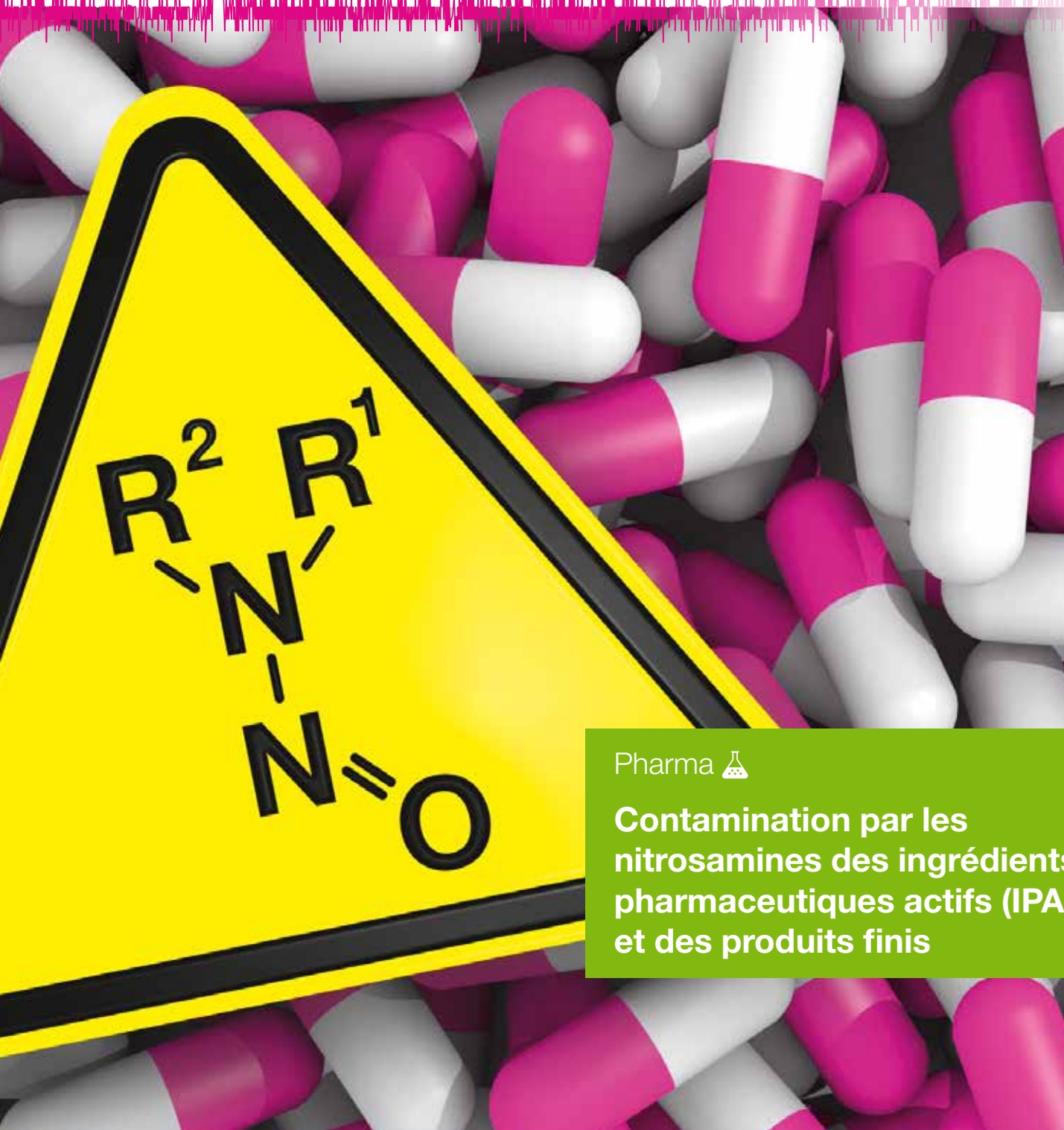


INTERLABOR
BELP AG

ANALYTICS

N° 1
Septembre 2021



Pharma 

**Contamination par les
nitrosamines des ingrédients
pharmaceutiques actifs (IPA)
et des produits finis**



Contamination par les nitrosamines des ingrédients pharmaceutiques actifs (IPA) et des produits finis

Auteur: Monika Gumpendobler

Introduction

En été 2018, une contamination par des nitrosamines a été découverte pour la première fois dans plusieurs lots de l'IPA valsartan provenant d'un fabricant chinois^[1]. Depuis lors, la contamination par les nitrosamines a été constatée dans des produits d'autres fabricants ainsi que dans d'autres classes d'IPA. Cela a entraîné des rappels de produits dans le monde entier ainsi qu'une forte incertitude parmi les producteurs et les consommateurs. Face à l'ampleur des cas de contamination qui a été atteinte, l'EMA exigera à l'avenir que chaque titulaire d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) pour chaque médicament à usage humain fournisse l'assurance qu'il ne contient pas de nitrosamines^[2]. En outre, la réalisation d'une analyse des risques pour chaque produit fini est requise^[2]. Au cours des derniers mois, la FDA, Swissmedic et d'autres autorités ont publié de nombreuses méthodes d'analyse des nitrosamines dans les ingrédients pharmaceutiques actifs et les produits finis. Chacune de ces méthodes présente des avantages et des inconvénients, mais il n'existe pas de procédure généralement normalisée.

INTERLABOR aimerait vous soutenir dans la partie analytique de l'évaluation des risques et vous présenter notre concept pour la détermination des nitrosamines.

Quand faut-il rechercher les nitrosamines?

Dans un premier temps, les titulaires d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) sont censés effectuer une évaluation des risques de leur produit. Il s'agit de vérifier si des nitrosamines peuvent être générées ou introduites dans le processus de fabrication du produit. Les sources possibles de nitrosamines ainsi que les scénarios confirmés ont été résumés par l'Agence européenne des médicaments (EMA)^[4]. Swissmedic a également établi un aperçu des sources possibles de nitrosamines^[5].

En résumé, les points suivants peuvent entraîner une contamination par les nitrosamines:

- Produits Sartan avec un cycle tétrazole typique.
- Matières premières contaminées par des nitrosamines ou matières premières contenant des nitrites ou contaminées par des nitrites, qui peuvent réagir avec les amines existantes.
- Eau potable : l'eau potable peut être contaminée par la NDMA en raison du traitement de l'eau potable, en tant que sous-produit des pesticides et des désinfectants.
- Les solvants tels que le diméthylformamide (DMF), la N-méthylpyrrolidone (NMP) et la triéthylamine (TEA) peuvent être des sources d'amines, qui peuvent former des nitrosamines en combinaison avec des réactifs de nitration pendant le processus de fabrication.
- Nitrite de sodium ou autres nitrites en présence d'amines secondaires ou tertiaires.

Possibilités de détermination des nitrosamines

Si une évaluation des risques ne permet pas d'exclure une contamination par les nitrosamines, le produit doit être soumis à un test de détection des nitrosamines. Il existe de nombreuses méthodes pour déterminer les nitrosamines, y compris des méthodes simples comme la chromatographie sur couche mince ou la GC-TEA. Aujourd'hui, les nitrosamines sont généralement déterminées par GC-MS/MS ou LC-MS/MS. Ces techniques fournissent une analyse très spécifique et fiable. Les composés peuvent être identifiés de manière fiable sur la base du temps de rétention et de la fragmentation spécifique (MRM) basée sur la structure chimique.

INTERLABOR Belp AG a mis en œuvre des méthodes pour les deux techniques (GC-MS/MS et LC-MS/MS), avec lesquelles les nitrosamines énumérées dans le **tableau 1** peuvent être analysées dans les produits pharmaceutiques. Swissmedic, l'EMA^[4] et la FDA^[5] ont établi des limites journalières pour certaines nitrosamines, qui peuvent être converties en une limite spécifique au produit au moyen de la dose journalière. La Pharmacopée européenne a également stipulé pour les produits à base de sartan que les nitrosamines doivent être examinées dans le cadre d'une évaluation des risques conformément au chapitre général 2.5.42 (publié dans Ph. Eur. 10.6)^[6].



Procédure/évaluation initiale des risques

Les valeurs limites indiquées ci-dessus s'appliquent si **l'une** des nitrosamines énumérées peut être détectée dans le produit. Si plusieurs nitrosamines sont détectées, il faut à nouveau s'assurer qu'il n'y a pas de risque pour le patient. Dans ce cas, la somme des nitrosamines détectées doit être inférieure à la valeur limite de la nitrosamine la plus puissante.

Les exigences relatives à la méthode et à l'assurance de la limite dépendent de la manière dont les nitrosamines sont traitées par rapport à l'analyse de libération, par exemple si les nitrosamines doivent être omises de la spécification ou si tous les lots ne doivent pas être testés (Skip-Testing).

Si les nitrosamines ne sont testées qu'une seule fois dans le cadre de l'évaluation des risques, la méthode doit pouvoir couvrir 10% de la limite conformément aux exigences de l'EMA [4]. Si seuls des lots individuels du produit doivent être testés après l'évaluation des risques, la méthode doit pouvoir couvrir 30 % de la limite.

Inversement, cela signifie que 10 % de la limite devraient être assurés lors de chaque examen préalable afin de pouvoir faire une déclaration sur les étapes suivantes. Ce n'est que lorsqu'il est assuré qu'il n'y a pas de contamination par les nitrosamines supérieure à 10 % de la limite que l'évaluation des risques peut être achevée.

Conformément à l'EMA, si seulement 30 % de la limite peut être garanti dans un produit, les nitrosamines doivent être spécifiées et contrôlées régulièrement à l'aide d'une méthode validée par le titulaire de l'autorisation de mise sur le marché.

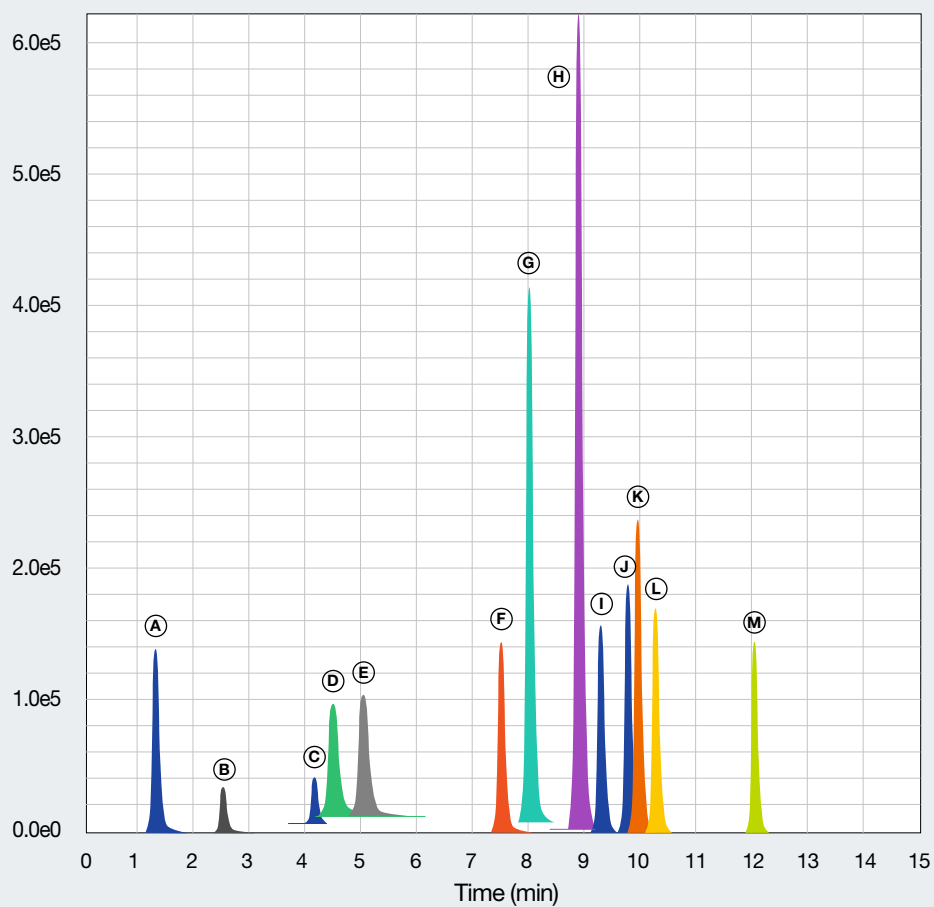
Chez INTERLABOR Belp AG, tous les dépistages de nitrosamines sont conçus de manière à tenter d'obtenir 10 % de la limite. Cela n'est pas possible pour toutes les nitrosamines dans toutes les matrices. Souvent, les deux techniques (GC-MS/MS et LC-MS/MS) doivent être utilisées pour un dépistage complet.

Tableau 1: nitrosamines mises en œuvre

Abréviation	Composants	CAS-Nr.	EMA [4] ng/day	FDA [5] ng/day	Swissmedic ng/day
NDMA	N-Nitrosodiméthylamin	62-75-9	96.0	96.0	96.0
NMEA	N-Nitrosométhylethylamin	10595-95-6	-	-	-
NDEA	N-Nitrosodiéthylamin	55-18-5	26.5	26.5	26.5
NDPA	N-Nitrosodipropylamin	621-64-7	-	-	-
NDBA	N-Nitrosodibutylamin	924-16-3	26.5		26.5
NDIPA	N-Nitrosodiisopropylamin	601-77-4	26.5	26.5	26.5
NEIPA	N-Nitrosoéthylisopropylamin	16339-04-1	26.5	26.5	26.5
NIPI	N-Nitrosopiperidine	100-75-4	-	-	-
NPYR	N-Nitrosopyrrolidine	930-55-2	-	-	-
NMBA	N-Nitrosométhylbutylamine	7068-83-9	-	-	-
NMBA	N-Nitrosométhyl butyric acid	61445-55-4	96.0	96.0	96.0
NMPA	N-Nitroso-N-méthylanilin	614-00-6	-	26.5	34.3
MeNP	N-Nitroso-4-méthylpiperazin	16339-07-4	26.5	-	26.5
NMOR	N-Nitrosomorpholine	59-89-2	127	-	-



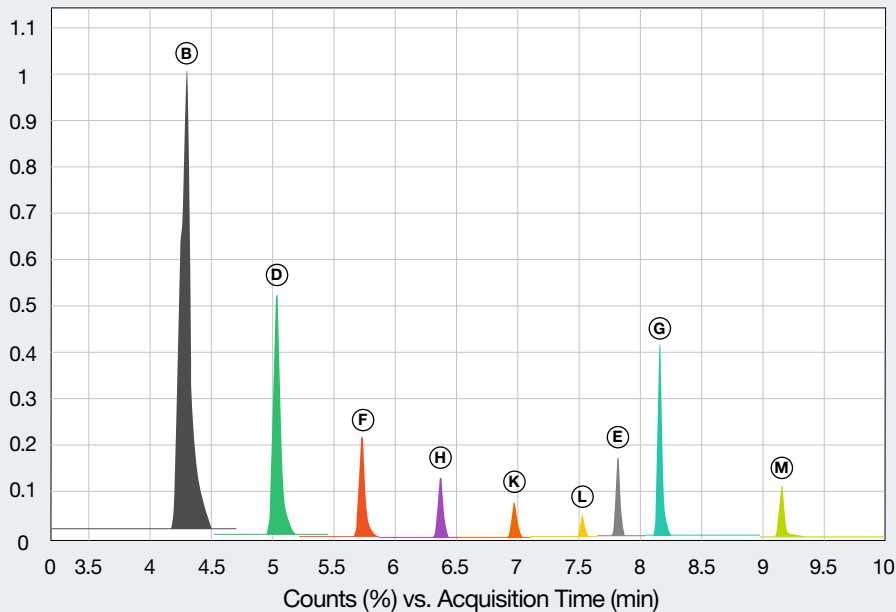
Exemple de chromatogramme d'analyses de nitrosamines LC-MS/MS



Temps de rétention (en minutes)

- A) 1.28 MeNP N-Nitroso-4-methylpiperazin (CAS 16339-07-4)
- B) 2.53 NDMA N-Nitrosodimethylamin (CAS 62-75-9)
- C) 4.32 NMBA N-Nitrosomethyl butyric acid (CAS 61445-55-4)
- D) 4.57 NMEA N-Nitrosomethylethylamin (CAS 10595-95-6)
- E) 5.03 NPYR N-Nitrosopyrrolidine (CAS 930-55-2)
- F) 7.56 NDEA N-Nitrosodiethylamin (CAS 55-18-5)
- G) 8.04 NPIP N-Nitrosopiperidine (CAS 100-75-4)
- H) 8.91 NEIPA N-Nitrosoethylisopropylamine (CAS 16339-04-1)
- I) 9.19 NMBA N-Nitrosomethylbutylamine (CAS 7068-83-9)
- J) 9.71 NMPA N-Nitroso-N-methylanilin (CAS 614-00-6)
- K) 9.86 NDIPA N-Nitrosodiisopropylamin CAS 601-77-4)
- L) 10.16 NDPA N-Nitrosodipropylamin (CAS 621-64-7)
- M) 11.99 NDBA N-Nitrosodibutylamin (CAS 924-16-3)

Exemple de chromatogramme d'analyses de nitrosamines par GC-MS/MS



Temps de rétention (en minutes)

B)	4.29	NDMA N-Nitrosodiméthylamin (CAS 62-75-9)
D)	5.03	NMEA N-Nitrosométhylethylamin (CAS 10595-95-6)
F)	5.72	NDEA N-Nitrosodiéthylamin (CAS 55-18-5)
H)	6.36	NEIPA N-Nitrosoéthylisopropylamin (CAS 16339-04-1)
K)	6.96	NDIPA N-Nitrosodiiisopropylamin CAS 601-77-4)
L)	7.52	NDPA N-Nitrosodipropylamin (CAS 621-64-7)
E)	7.81	NPYR N-Nitrosopyrrolidine (CAS 930-55-2)
G)	8.15	NPIP N-Nitrosopiperidine (CAS 100-75-4)
M)	9.14	NDBA N-Nitrosodibutylamin (CAS 924-16-3)

Données clés

Dépistage de l'«état de l'art» pour l'évaluation des risques. Nous réalisons ici la détermination des nitrosamines à l'aide d'un calibrage externe avec correction du standard interne dans la gamme de 10% à 150% de la limite calculée individuellement. Pour vérifier la méthode, un échantillon est dopé à 10%, 50% et 100% de la limite et les taux de récupération sont déterminés. Pour les récupérations en dehors de la gamme habituelle de 70% à 130%, la quantification est effectuée par addition de standards.

Pour effectuer cette analyse, nous avons besoin de la dose journalière maximale et des limites applicables (EMA, FDA, Swissmedic) à partir desquelles nous calculons ensuite la concentration à couvrir.

Cette procédure complète vous permet d'obtenir un résultat d'analyse fiable sur lequel vous pourrez vous appuyer pour la suite.

Analyses sous ISO 17025 ou GMP. L'effort requis pour les analyses sous ISO 17025 ou GMP dépend fortement de la gamme de tests et des valeurs limites à sauvegarder. Nous serons heureux de vous fournir un devis pour votre produit si vous nous informez de la dose journalière maximale et des valeurs limites à appliquer.

Conclusion

Ces dernières années ont montré que les nitrosamines sont détectées de manière répétée dans les ingrédients pharmaceutiques actifs. La publication des méthodes et des règlements de toutes les grandes autorités en matière de produits thérapeutiques montre également qu'il existe un risque majeur dans ce domaine au cours de la production. Grâce à une évaluation des risques bien fondée et à des méthodes de mesure sensibles et sélectives, le potentiel de contamination par les nitrosamines peut déjà être déterminé pour de nombreux processus de fabrication et produits. Pour tous les produits pour lesquels un risque ne peut être exclu, des techniques de mesure modernes, sûres et sélectives sont disponibles. INTERLABOR sera heureux de vous soutenir dans cette démarche. □

Références

- [1] <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/post-authorisation/referral-procedures/nitrosamine-impurities>
- [2] <https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-advises-companies-steps-take-avoid-nitrosamines-human-medicines>
- [3] www.swissmedic.ch «Checkliste Risikoabklärung N-Nitrosaminverunreinigung» (15.11.2019)
- [4] EMA/409815/2020 Rev.4 «Questions and answers for marketing authorisation holders/applicants on the CHMP Opinion for the Article 5(3) of Regulation (EC) No 726/2004 referral on nitrosamine impurities in human medicinal products»
- [5] FDA document «Control of Nitrosamine Impurities in Human Drugs – Guidance for Industry» (February 2021-Revision 1)
- [6] <https://www.edqm.eu/en/news/ph-eur-commission-adopts-new-general-chapter-analysis-n-nitrosamine-impurities> (02.06.2021)

Auteur



**Monika
Gumpendobler**
Assistante de
recherche R & D

INTERLABOR BELP AG



Interlabor Belp AG

Aemmenmattstrasse 16
3123 Belp, Suisse
Tél. +41 (0)31 818 77 77
www.interlabor.ch
info@interlabor.ch

Heures d'ouverture

Du lundi au vendredi
07.30 – 12.00 heures
13.30 – 17.00 heures