

INTERLABOR  
BELP AG

# ANALYTICS

N° 1  
September 2021



Pharma 

**Nitrosamin-Kontamination  
von aktiven pharmazeutischen  
Wirkstoffen (API) und  
Fertigprodukten**



# Nitrosamin-Kontamination von aktiven pharmazeutischen Wirkstoffen (API) und Fertigprodukten

Autorin: Monika Gumpendobler

## Einleitung

Seit dem Fund von entsprechend verunreinigten Chargen des APIs Valsartan eines chinesischen Herstellers durch Behörden im Sommer 2018 <sup>[1]</sup> wurden sowohl in Produkten von anderen Herstellern als auch in anderen Wirkstoffklassen Nitrosamin-Kontaminationen entdeckt. Die Folge waren weltweite Produktrückrufe sowie eine starke Verunsicherung von Produzenten und Verbrauchern. Als Reaktion auf das mittlerweile erreichte Ausmass an Kontaminationsfällen fordert die European Medicines Agency (EMA) zukünftig von jedem Zulassungsinhaber (MAH) für jedes Humanarzneimittel die Zusicherung, dass keine Nitrosamine enthalten sind <sup>[2]</sup>. Darüber hinaus ist die Durchführung einer Risikoanalyse für jedes Fertigprodukt notwendig <sup>[2]</sup>. Die FDA, die Swissmedic und weitere Behörden haben in den letzten Monaten zahlreiche Methoden zur Analyse von Nitrosaminen in pharmazeutischen Wirkstoffen und Fertigprodukten publiziert. Jede dieser Methoden hat Vor- und Nachteile, im Pharmabereich fehlt allerdings ein allgemein standardisiertes Verfahren.

Seitens INTERLABOR möchten wir Sie gerne beim analytischen Teil der Risikobeurteilung unterstützen und Ihnen nachfolgend unser Konzept zur Bestimmung von Nitrosaminen vorstellen.

## Wann sollten Nitrosamine untersucht werden?

In einem ersten Schritt wird von den Zulassungsinhabern (MAH) eine Risikobeurteilung zu ihrem Produkt erwartet. Dabei wird überprüft, ob im Herstellungsprozess des Produktes Nitrosamine entstehen oder eingeschleppt werden können. Mögliche Quellen von Nitrosaminen sowie bestätigte Szenarien wurden von der EMA zusammengefasst <sup>[4]</sup>. Auch die Swissmedic hat eine Übersicht von möglichen Nitrosaminquellen zusammengestellt <sup>[3]</sup>.

Kurz zusammengefasst können folgende Punkte zu einer Nitrosaminverunreinigung führen:

- Sartan-Produkte mit typischen Tetrazol-Ring
- Mit Nitrosaminen kontaminierte Rohstoffe oder nitrit-haltige bzw. mit Nitrit kontaminierte Rohstoffe, welche mit vorhandenen Aminen reagieren können
- Trinkwasser: Durch die Aufbereitung von Trinkwasser, als Nebenprodukt von Pestiziden und Desinfektionsmitteln kann Trinkwasser mit NDMA kontaminiert sein
- Lösungsmittel wie Dimethylformamid (DMF), N-Methylpyrrolidone (NMP) und Triethylamine (TEA) können Quellen für Amine sein, welche im Herstellungsprozess in Kombination mit Nitrierungsreagenzien Nitrosamine bilden können
- Natriumnitrit oder anderer Nitrite in Gegenwart von sekundären oder tertiären Aminen

## Möglichkeiten der Nitrosamine-Bestimmung

Wenn eine Nitrosaminverunreinigung durch eine Risiko-beurteilung nicht ausgeschlossen werden kann, muss das Produkt auf Nitrosamine geprüft werden. Es gibt viele Methoden um Nitrosamine zu bestimmen, darunter auch einfache Verfahren wie Dünnschichtchromatographie oder GC-TEA. Heutzutage werden Nitrosamine normalerweise mittels GC-MS/MS oder LC-MS/MS bestimmt. Diese Techniken bieten eine sehr spezifische und sichere Analytik. Die Verbindungen können anhand der Retentionszeit und der spezifischen Fragmentierung (MRM) basierend auf der chemischen Struktur sicher identifiziert werden.

INTERLABOR hat Methoden für beide Techniken (GC-MS/MS und LC-MS/MS) implementiert, mit denen die in **Tabelle 1** aufgeführten Nitrosamine in pharmazeutischen Produkten analysiert werden können. Die Swissmedic, EMA <sup>[4]</sup> und FDA <sup>[5]</sup> haben für einige Nitrosamine Tageslimits festgelegt, welche mittels der täglichen Dosis auf ein produktspezifisches Limit umgerechnet werden können. Die europäische Pharmakopöe hat für Arzneimittel mit Sartanen festgelegt, dass die Nitrosamine im Rahmen einer Risikobeurteilung gemäss dem generellen Kapitel 2.5.42 zu überprüfen sind (publiziert in Ph. Eur. 10.6) <sup>[6]</sup>. Von den derzeit 300 verschiedenen Nitrosaminen, die bekannt sind, liegen nur für ein Drittel Daten zur Beurteilung vor.



### Vorgehen / erste Risikoabschätzung

Die aufgeführten Grenzwerte gelten, wenn im Produkt **eines** der aufgeführten Nitrosamine nachgewiesen werden kann (**Tabelle 1**). Werden mehrere Nitrosamine detektiert, so muss wiederum sichergestellt werden, dass kein Risiko für den Patienten besteht. Hierbei gilt, dass die Summe der detektierten Nitrosamine unter dem Grenzwert des Nitrosamins mit der höchsten Potenz (dem tiefsten Grenzwert) liegen muss.

Die Anforderungen an die Methode und die Grenzwertabsicherung sind abhängig davon, wie die Nitrosamine in Bezug auf die Freigabeanalytik behandelt werden, beispielsweise wenn die Nitrosamine aus der Spezifikation ausgelassen werden sollen oder wenn nicht jede Charge geprüft werden soll (Skip-Testing).

Werden Nitrosamine nur im Rahmen der Risikoabschätzung einmalig geprüft, muss die Methode gemäss den Anforderungen der EMA <sup>[4]</sup> 10 % des Grenzwertes absichern können. Sollen nach der Risikoeinschätzung nur einzelne Chargen des Produktes geprüft werden, muss mit der Methode 30 % des Grenzwertes abgesichert werden können.

Dies bedeutet im Umkehrschluss für die Risikoabschätzung, dass bei jedem Screening 10 % des Grenzwertes abgesichert werden sollten, um eine Aussage über die weiteren Schritte treffen zu können. Erst wenn sichergestellt ist, dass keine Nitrosamin-Verunreinigung grösser als 10 % des Grenzwertes vorhanden ist, kann die Risikoabschätzung abgeschlossen werden.

Können in einen Produkt aufgrund der komplexen Matrix nur 30 % des Grenzwertes abgesichert werden, müssen die Nitrosamine gemäss EMA von der Zulassungsinhaberin spezifiziert und mit einer validierten Methode regelmässig kontrolliert werden.

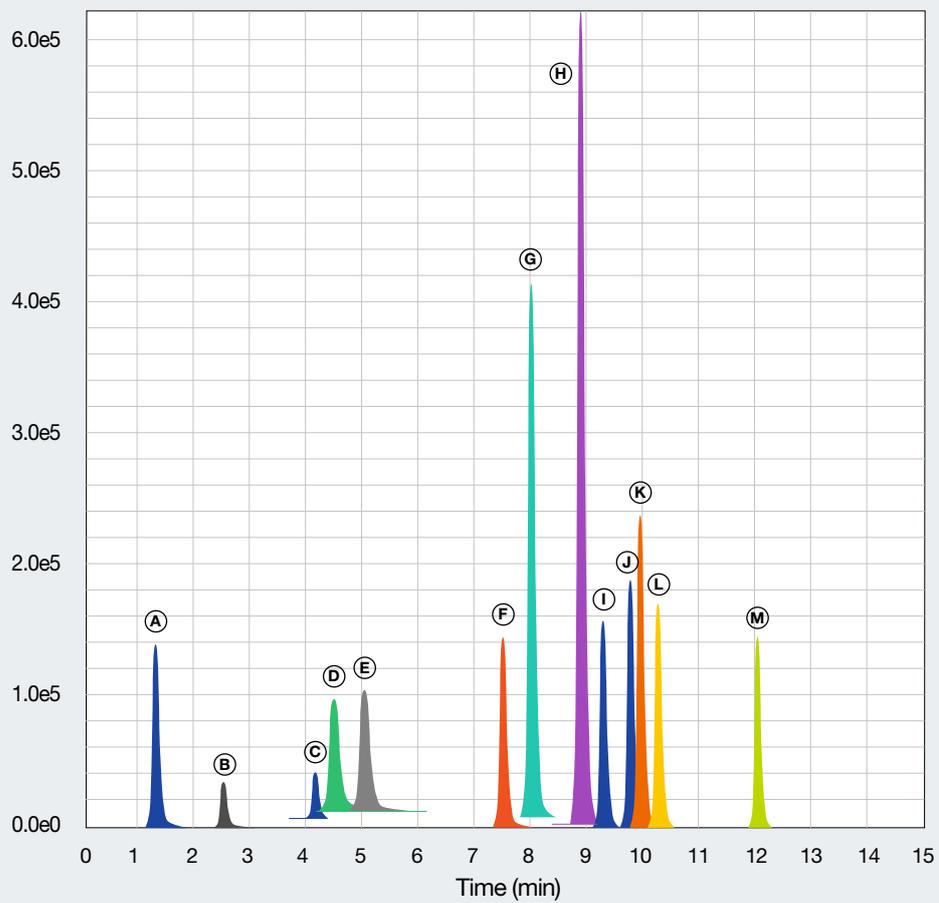
Bei INTERLABOR sind alle Nitrosamin Screenings so ausgelegt, dass versucht wird, 10 % des Grenzwertes abzusichern. Dies ist nicht für alle Nitrosamine in allen Matrices möglich. Oft müssen für ein vollständiges Screening beide Techniken (GC-MS/MS und LC-MS/MS) eingesetzt werden.

**Tabelle 1: Implementierte Nitrosamine und ihre Grenzwerte**

Abkürzung	Verbindung	CAS-Nr.	EMA [4] ng/day	FDA [5] ng/day	Swissmedic ng/day
NDMA	N-Nitrosodimethylamin	62-75-9	96.0	96.0	96.0
NMEA	N-Nitrosomethylethylamin	10595-95-6	-	-	-
NDEA	N-Nitrosodiethylamin	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-Nitrosoethylisopropylamin	16339-04-1	26.5	26.5	26.5
NPIP	N-Nitrosopiperidine	100-75-4	-	-	-
NPYR	N-Nitrosopyrrolidine	930-55-2	-	-	-
NMBA	N-Nitrosomethylbutylamine	7068-83-9	-	-	-
NMBA	N-Nitrosomethyl butyric acid	61445-55-4	96.0	96.0	96.0
NMPA	N-Nitroso-N-methylanilin	614-00-6	-	26.5	34.3
MeNP	N-Nitroso-4-methylpiperazin	16339-07-4	26.5	-	26.5
NMOR	N-Nitrosomorpholine	59-89-2	127	-	-



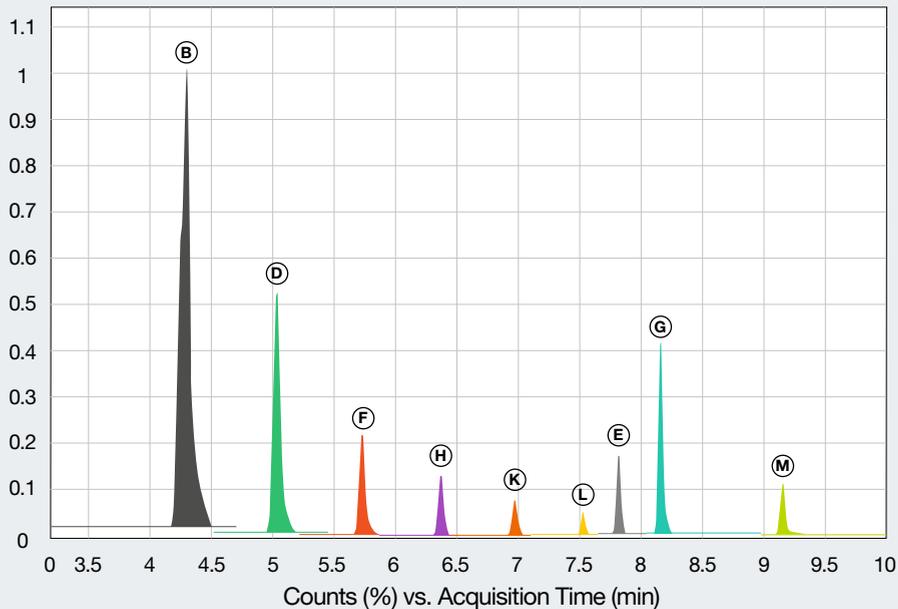
### Beispielchromatogramm Nitrosaminanalyten LC-MS/MS



#### Retentionszeit (in Minuten)

- 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)

## Beispielchromatogramm Nitrosaminanalyten GC-MS/MS



### Retentionszeit (in Minuten)

- B) 4.29 NDMA N-Nitrosodimethylamin (CAS 62-75-9)
- D) 5.03 NMEA N-Nitrosomethylethylamin (CAS 10595-95-6)
- F) 5.72 NDEA N-Nitrosodiethylamin (CAS 55-18-5)
- H) 6.36 NEIPA N-Nitrosoethylisopropylamin (CAS 16339-04-1)
- K) 6.96 NDIPA N-Nitrosodiisopropylamin 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)

### Eckdaten

«State of the art»-Screening für eine Risikoeinschätzung. Hierbei führen wir die Bestimmung der Nitrosamine anhand einer externen Kalibration mit interner Standardkorrektur im Bereich von 10 % bis 150 % des individuell berechneten Grenzwertes durch. Zur Überprüfung der Methode wird je eine Probe auf 10 %, 50 % und 100 % des Grenzwertes dotiert und die Wiederfindungsraten bestimmt. Bei Wiederfindungsraten ausserhalb des üblichen Bereichs von 70 % bis 130 % wird die Quantifizierung über eine Standardaddition durchgeführt.

**Für die Durchführung dieser Analytik benötigen wir die maximale Tagesdosis und die anzuwendenden Grenzwerte (EMA, FDA, Swissmedic). Hieraus berechnen wir anschliessend die abzusichernde Konzentration.**

Dieses umfangreiche Vorgehen bietet Ihnen ein sicheres Analysenergebnis, auf welchem die weiteren Schritte begründet werden können.

### Analysen im Rahmen der ISO 17025 oder der GMP.

Der Aufwand für Analysen unter ISO 17025 oder GMP hängt stark vom Untersuchungsspektrum, der Matrix und den abzusichernden Grenzwerten ab. Wir erstellen Ihnen gerne eine Offerte für Ihr Produkt, wenn Sie uns die maximale Tagesdosis und die anzuwendenden Grenzwerte mitteilen.

## Fazit

Die letzten Jahre haben gezeigt, dass immer wieder Nitrosamine in pharmazeutischen Wirkstoffen detektiert werden. Auch die Veröffentlichung von Methoden und Verordnungen aller grossen Heilmittelbehörden zeigen, dass hier ein grosses Risiko bei der Herstellung liegt. Aufgrund der fundierten Risikoabschätzung und sensitiven sowie selektiven Messmethoden können für viele Herstellungsprozesse und Produkte bereits das Potenzial einer Nitrosamine-Kontamination eruiert werden. Für alle Produkte wo ein Risiko nicht ausgeschlossen werden kann, stehen moderne, sichere und selektive Messtechniken zur Verfügung. INTERLABOR unterstützt Sie hierbei gerne. □

## Quellen

- [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](http://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)

## Autorin



**Monika  
Gumpendobler**  
Wissenschaftliche  
Mitarbeiterin F&E

# INTERLABOR BELP AG



### Interlabor Belp AG

Aemmenmattstrasse 16  
3123 Belp, Schweiz  
Tel. +41 (0)31 818 77 77  
[www.interlabor.ch](http://www.interlabor.ch)  
[info@interlabor.ch](mailto:info@interlabor.ch)

### Öffnungszeiten

Montag bis Freitag  
07.30 – 12.00 Uhr  
13.30 – 17.00 Uhr