

# Nitrozoaminy w produktach leczniczych

Katarzyna Dominiak<sup>1</sup>, Marta Lewandowska<sup>1</sup>, Katarzyna Dettlaff<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Studenckie Koło Naukowe „Analiza Leków i Kosmetyków” przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Polska

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Polska

Farmacja Polska, ISSN 0014-8261 (print); ISSN 2544-8552 (on-line)

## Adres do korespondencji

Katarzyna Dettlaff, Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Grunwaldzka 6, 60-780, Poznań, Polska; e-mail: dettlaff@ump.edu.pl

## Źródła finansowania

Nie wskazano źródeł finansowania.

## Konflikt interesów

Nie istnieje konflikt interesów.

Otrzymano: 2022.03.30

Zaakceptowano: 2022.05.23

Opublikowano on-line: 2022.05.31

## DOI

10.32383/farmpol/150353

## ORCID

Katarzyna Dominiak -  0000-0002-6807-540X

Marta Lewandowska -  0000-0001-6269-8617

Katarzyna Dettlaff -  0000-0002-5986-7544

## Copyright

© Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne

To jest artykuł o otwartym dostępie,

na licencji CC BY NC 

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

by-nc/4.0/

## Nitrosamines in medicinal products

Nitrosamines are compounds that have a harmful effect on the organisms of animals and humans. The first information about their teratogenic, mutagenic, and genotoxic effects appeared in the mid-twentieth century. The source of nitrosamines in the human environment are, among others, cold cuts, processed meat, drinking water, tobacco smoke, and some plastics. The discovery of the presence of nitrosamines in some medicinal products was received with great concern in 2018.

The first group of drugs in which the presence of carcinogenic compounds was proven were sartans (valsartan, losartan, and irbesartan), and then also metformin, ranitidine, nizatidine, rifapentin, and rifampicin. Some of the medicinal products on the market were discontinued, and after the presence of nitrosamines was confirmed, they were withdrawn. Then, the investigations on the cause of the presence of such harmful compounds in the drugs were carried out. It turned out that in the case of three medicinal substances from the group of sartans, nitrosamines were impurities from the synthesis process, formed in the stage of tetrazole ring formation from organic or inorganic azides. In the case of macrolide antibiotics from the ansamycin group, nitrosamines were also process-related impurities, and in the case of metformin, ranitidine and nizatidine, they turned out to be degradation products of medicinal compounds.

When it was discovered that nitrosamines could be present in some drugs used in the treatment of hypertension for over 5 years, that is from the last modification of the synthesis by the manufacturer of the drug substance, retrospective observational studies were carried out, in which the level of cancer risk associated with taking contaminated preparations was established.

Analytical methods for the determination of nitrosamines in medicinal substances and medicinal products based on liquid or gas chromatography coupled with mass spectrometry have been developed. Moreover, testing procedures and stringent guidelines for the content of nitrosamines were introduced to the 10th edition of the European Pharmacopoeia to guarantee the appropriate quality of drugs, ensuring safe therapy.

**Keywords:** metformin, ranitidine, impurities, sartans, nitrosamines.

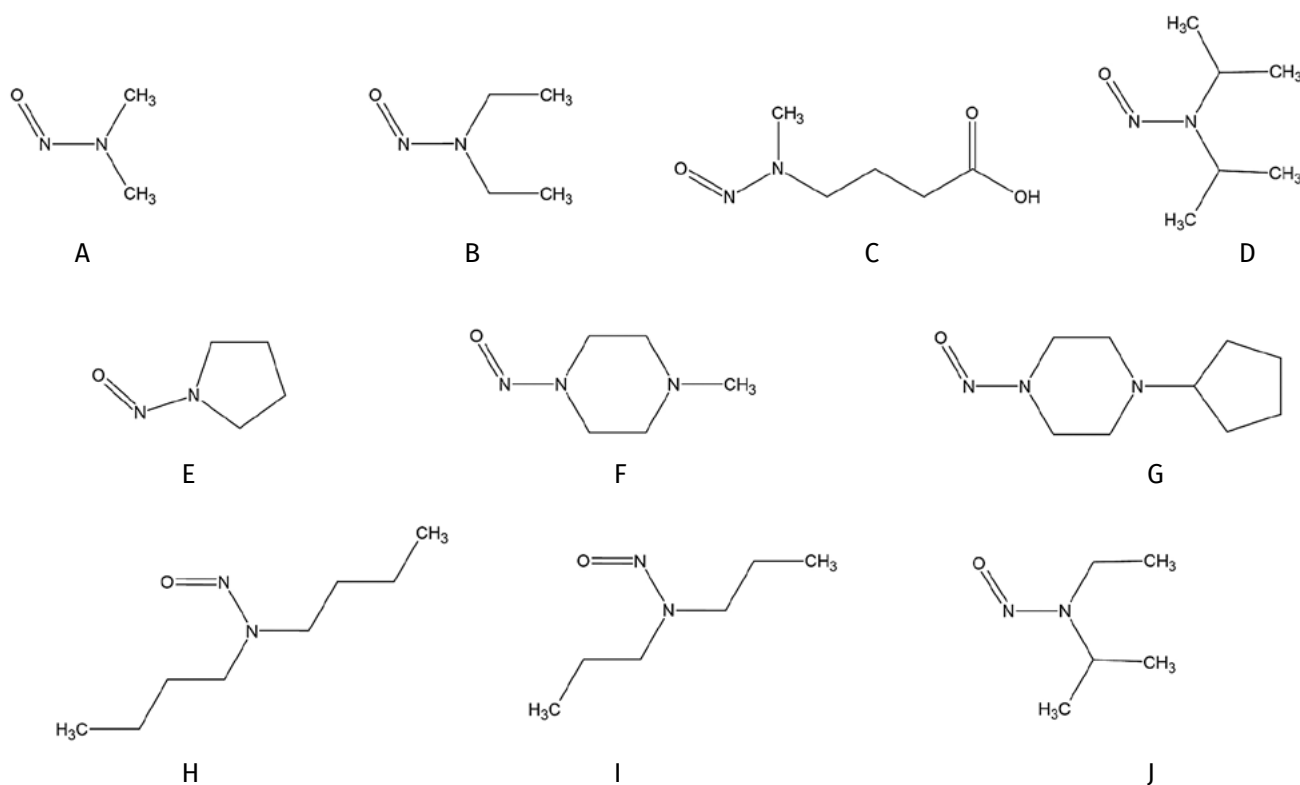
© Farm Pol, 2022, 78(3): 151–158

## Wprowadzenie

Informacje o obecności szkodliwych nitrozoamin w produktach leczniczych, będących w obrocie w Stanach Zjednoczonych, w Europie, a także w Polsce, pojawiły się w połowie roku 2018. W preparatach na nadciśnienie zawierających substancje czynne z grupy sartanów wykryto *N*-nitrozodimetyloaminę (NDMA – **rycina 1A**), a później *N*-nitrozodietyloaminę (NDEA – **rycina 1B**), kwas *N*-nitroso-*N*-metylo-4-aminomasłowy (NMBA – **rycina 1C**) oraz *N*-nitrozodii-zopropylloaminę (NDIPA – **rycina 1D**) [1].

Pierwsze wzmianki o kancerogenności nitrozoamin pojawiły się w połowie XX w. W 1956 r. stwierdzono, że NDMA jest silną trucizną i wywołuje uszkodzenia wątroby oraz nowotwory u zwierząt laboratoryjnych. Wykazano, że dawka 30–100 µg NDMA/kg paszy wywołuje raka u szczurów, a u myszy wystarcza dawka zaledwie 10 µg/kg, za to aktywność *N*-nitrozopirolidyny (NPYR – **rycina 1E**) jest 100-krotnie mniejsza [2]. Od tego czasu przebadano ponad 300 nitrozoamin

i około 90% z nich uznano za rakotwórcze w wielu gatunków zwierząt [3]. *N*-nitrozoaminy mają właściwości mutagenne, teratogenne/embriotoksyczne, a także genotoksyczne. Są prekancerogenami metabolizowanymi w ustroju do właściwych kancerogenów (zwłaszcza kationów karbeniowych), wykazujących silne właściwości alkilujące w stosunku do zasad purynowych i pirymidynowych obecnych w białkach oraz kwasach nukleinowych (DNA, RNA) [1, 3]. Nitrozoaminy są klasyfikowane jako prawdopodobne lub możliwe czynniki rakotwórcze u ludzi i określane jako „kohorta budząca obawy” w wytycznych Międzynarodowej Rady Harmonizacji Wymagań Technicznych dla Rejestracji Produktów Leczniczych Stosowanych u Ludzi (ang. *International Council on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*, ICH) ICH M7 (R1) [4]. W ostatnich latach opracowano dla nich limity dopuszczalnego spożycia (ang. *Acceptable Intakes*, AI), czyli określono stężenia, przy których dzienne narażenie na zanieczyszczenie nitrozoaminą po ekspozycji



**Rycina 1.** Struktury nitrozoamin: A: *N*-nitrozodimetyloamina (NDMA); B: *N*-nitrozodietyloamina (NDEA); C: Kwas *N*-nitroso-*N*-metylo-4-aminomasłowy (NMBA); D: *N*-nitrozodiiizopropylloamina (NDIPA); E: *N*-nitrozopirolidyna (NPYR); F: 1-Metylo-4-nitrozopiperazyna (MNP); G: 1-Cyklopentyl-4-*N*-nitrozopiperazyna (CPNP); H: *N*-nitrozodibutyloamina (NDBA); I: *N*-nitrozodipropylloamina (NDPA); J: *N*-nitrosoetyloizopropylloamina (NEIPA).

**Figure 1.** Structures of nitrosamines: A: *N*-nitrosodimethylamine (NDMA); B: *N*-nitrosodiethylamine (NDEA); C: *N*-nitroso-*N*-methyl-4-aminobutyric acid (NMBA); D: *N*-nitrosodiisopropylamine (NDIPA); E: *N*-nitrosopyrrolidine (NPYR); F: 1-Methyl-4-nitrosopiperazine (MNP); G: 1-Cyclopentyl-4-*N*-nitrosopiperazine (CPNP); H: *N*-nitrosodibutylamine (NDBA); I: *N*-nitrosodipropylamine (NDPA); J: *N*-nitrosoethylisopropylamine (NEIPA).

przez całe życie w przybliżeniu odpowiada ryzyku raka 1 do 100 000.

Źródłami *N*-nitrozoamin w środowisku człowieka są wędliny, przetworzone mięso, dym tytoniowy, piwo, sery, pieczone ryby, woda pitna, guma, niektóre tworzywa sztuczne [3, 5].

### Sartany

Pierwszym produktem leczniczym, w którym w 2018 r. wykryto nitrozoaminy był preparat walsartan, popularny lek z grupy blokerów receptora angiotensyny (ang. *angiotensin receptor blockers*, ARB) stosowany w terapii nadciśnienia tętniczego, niewydolności serca, zawału mięśnia sercowego czy też przewlekłej niewydolności nerek [6, 7]. Następnie pod kątem zawartości nitrozoamin przebadano także kolejne leki z tej grupy, tj. irbesartan i losartan. Okazało się, że zawartość szkodliwych nitrozoamin również została w nich przekroczona. Początkowo w USA, następnie w krajach europejskich wycofywano liczne produkty lecznicze z grupy sartanów, co niekorzystnie wpłynęło na dostępność tej grupy leków na rynku [8–10].

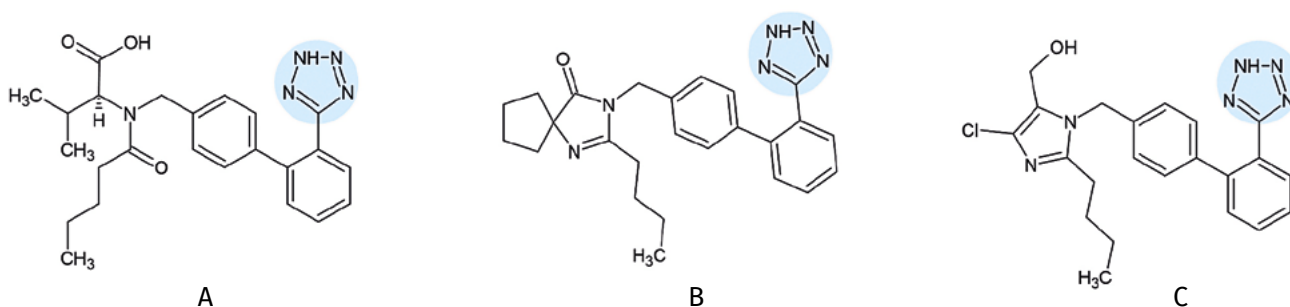
Kluczowe znaczenie dla aktywności farmakologicznej sartanów ma kwasowa grupa funkcyjna – pierścień tetrazolowy lub ugrupowanie karboksylowe, jednakże bifenylotetrazol zapewnia znacząco stabilność metaboliczną i biodostępność, dlatego jest zawarty w większości cząsteczek blokerów receptora angiotensynowego (**rycina 2**) dostępnych obecnie na rynku, z wyjątkiem eprosartanu, telmisartanu i azilsartanu, które zamiast tego zawierają podstawnik karboksylowy [11, 12].

W syntezie sartanów jedną z najczęściej stosowanych reakcji tworzenia pierścienia tetrazolowego jest reakcja wykorzystująca jeden z azydków organicznych, który przyłączany jest do produktu przejściowego – związku nitrylowego w warunkach kwasowych z wytworzeniem związku stannylotetrazolowego. Stwierdzono, że to właśnie na

tym etapie powstają szkodliwe nitrozoaminy, takie jak NDMA, NDEA i NMBA [1, 8, 11]. Zauważono także, że różnice w sposobie otrzymywania sartanów wpływają na obecność nitrozoamin. Zastosowanie przez niektórych producentów azydku sodowego, znacznie tańszego zamiennika azydku tributylocyny, było najprawdopodobniej głównym czynnikiem wpływającym na powstawanie toksycznych związków [1, 10, 13, 14]. Przy takiej modyfikacji pojawiła się konieczność usunięcia nieprzereagowanej części azydku sodowego poprzez dodanie azotanu (III) sodowego, przy którego udziale mogą powstawać *N*-nitrozoaminy, szczególnie w obecności amin drugorzędowych. Nieprzemyślana modyfikacja procesu syntezy walsartanu, przez niektórych producentów substancji czynnych, rozpętała „afere walsartanową” związaną z wykryciem śladowych ilości rakotwórczych *N*-nitrozoamin [1].

Najwyższy poziom NDMA zgłoszony przez Amerykańską Agencję Żywności i Leków (ang. *The United States Food and Drug Administration*, FDA) wyniósł 22 µg w tabletkę w produkcie walsartanu, a najwyższy poziom NDEA wyniósł 1,31 µg w tabletkę, również w produkcie walsartanowym. Te poziomy nitrozoamin znacznie przekraczały dopuszczalne przez FDA limity spożycia (96 ng/dzień dla NDMA i 26,5 ng/dzień dla NDEA) [9]. Stwierdzono także, że oprócz NDMA i NDEA sartany mogą być zanieczyszczone również innymi nitrozoaminami, w zależności od źródła dialkiloaminy, takimi jak: *N*-nitrozodiiizopropylloamina (NDIPA) i *N*-nitrozoetyloizopropylloamina (NEIPA) [11].

Prawdopodobnie około 2 miliony pacjentów mogło być narażonych na nitrozoaminy obecne w ARB. Według szacunków Kalifornijskiej Agencji Ochrony Środowiska, w przypadku NDMA prawdopodobne ryzyko zachorowania na raka wahało się od 40 do 126 dodatkowych przypadków raka na 100 000 narażonych osób. W przypadku NDEA, szacowane ryzyko zachorowania na raka wahało



**Rycina 2.** Sartany zawierające pierścień tetrazolowy: A. walsartan B. irbesartan C. losartan.

**Figure 2.** Sartans containing a tetrazole ring: A. valsartan B. irbesartan C. losartan.

się od 12 do 48 dodatkowych przypadków raka na 100 000 narażonych osób [9].

Na początku sierpnia 2018 r. Europejska Agencja Leków (ang. *European Medicines Agency*, EMA) przedstawiła wstępne oszacowanie ryzyka dla pacjentów narażonych na NDMA w wyniku przyjmowania skażonego walsartanu. Wskazano, że może wystąpić jeden dodatkowy przypadek raka na każde 5000 pacjentów dotkniętych chorobą i przyjmujących leki w najwyższej dawce walsartanu (320 mg) codziennie przez 7 lat. Jest to oparte na średnich poziomach tego zanieczyszczenia wykrytego w substancji czynnej z Zhejiang Huahai (60 ppm). W roku 2018 szacunki FDA były zgodne szacunkami EMA, ale na początku 2019 r. FDA zaktualizowała ryzyko jako jeden dodatkowy przypadek raka na każde 8000 pacjentów w ciągu 4,6 lat [15]. Szacunki te wciąż się zmieniają, bo agencje uwzględniają różne dane spływające z badań próbek leków i uwzględniają różne scenariusze, nie tylko ten najbardziej pesymistyczny, że pacjent przez cały okres zażywania leku na nadciśnienie trafił na tabletki zanieczyszczone największą ilością nitrozoamin [16].

Optymistyczne okazało się badanie epidemiologiczne 5150 duńskich pacjentów trwające średnio 4,6 lat, które nie wykazało wzrostu ryzyka zachorowania na raka u pacjentów, którzy byli narażeni na skażone ARB w porównaniu z pacjentami, którzy nie byli narażeni [7, 15].

### Metformina

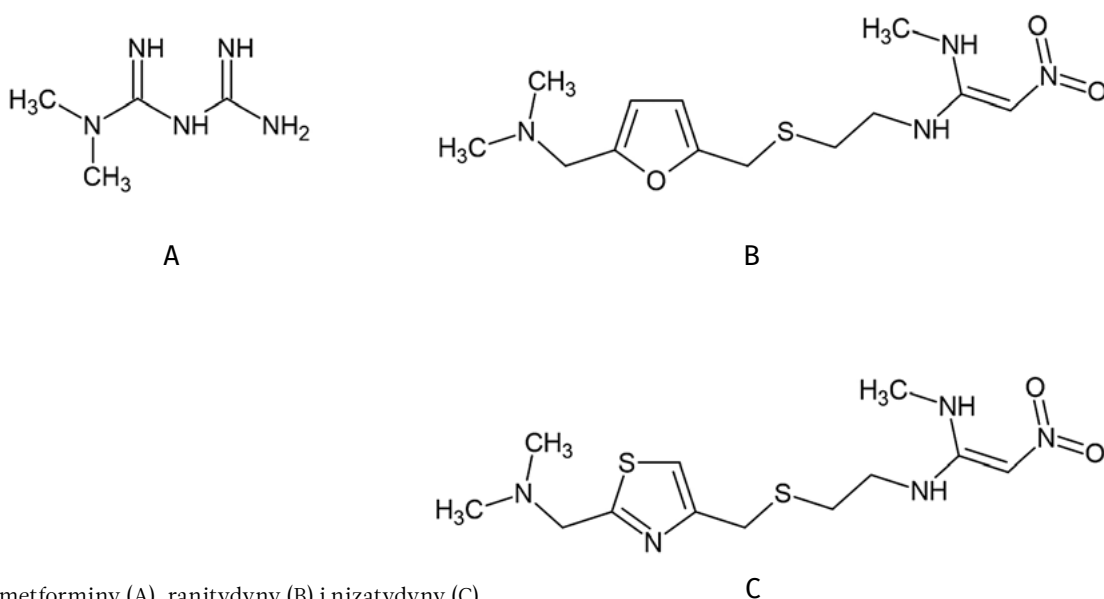
Metformina (**rycina 3A**) została zsyntetyzowana w 1922 r., natomiast w 1957 r. trafiła do lecznictwa. W 2000 r. wygasł patent oryginalnego

preparatu metforminy i stała się ona dostępna w formie wielu generyków [8]. Łatwa dostępność, przystępna cena oraz skuteczność działania sprawiły, że metformina jest jednym z najczęściej stosowanych leków u pacjentów z rozpoznaną cukrzycą typu II.

Wykazano, że w 2019 r. liczba recept na metforminę wyniosła 80 milionów w USA, natomiast już w 2013 r. w Wielkiej Brytanii 83,6% pacjentów z cukrzycą typu II zażywało ją regularnie [17]. Zastosowanie tej substancji aktywnej nie ogranicza się tylko do cukrzycy, gdyż jest również szeroko stosowana w otyłości, zespole policystycznych jajników oraz nowotworach. Uważana jest za lek względnie bezpieczny, którego dawkowanie wynosi nawet 3000 mg/dzień [18].

Pod koniec 2019 r. stwierdzono zanieczyszczenie metforminy *N*-nitrozoaminami powyżej dopuszczalnego poziomu. W Kanadzie wycofano kilka produktów z metforminą ze względu na podwyższony poziom NDMA. Inne partie produktu analizowane przez FDA oraz EMA nie wskazały w lutym 2020 r. podwyższonego poziomu kancerogennych związków [11, 19]. Jednakże w maju 2020 r. stwierdzono podwyższony poziom NDMA w preparatach metforminy o przedłużonym uwalnianiu, ale w produktach o natychmiastowym uwalnianiu normy nie zostały przekroczone [17]. Spowodowało to wycofanie 15 produktów zawierających metforminę [8], lecz żaden z nich nie był w obrocie na terenie Polski.

Synteza metforminy polega na jednoetapowym procesie, podczas którego następuje reakcja między dimetyloaminą a dicyjanodiamidem. Należy zwrócić uwagę, że dimetyloamina



**Rycina 3.** Struktura metforminy (A), ranitydyny (B) i nizatydyny (C).  
**Figure 3.** Structure of metformin (A), ranitidine (B) and nizatidine (C).

(DMA) jest prekursorem NDMA [8], a chlorowodorek dimetyloaminy jest opisany w Farmakopei Europejskiej jako zanieczyszczenie metforminy (zanieczyszczenie F), dla którego graniczną wartość ustalono na 500 ppm [20]. Na podstawie badań, przeprowadzonych metodą chromatografii cieczowej, oddziaływań hydrofilowych, sprzężonej ze spektrometrią mas (HILIC-MS), przeprowadzonych w Pradze w roku 2020 stwierdzono, że DMA powszechnie występuje zarówno w preparatach metforminy, jak i w samej substancji leczniczej w zakresie od 15 do 230 ppm [21]. Przemysłowa produkcja tabletek również może stwarzać źródła zanieczyszczeń. Wynika to z użytych substancji pomocniczych mogących zawierać azotyny na poziomie 1-2 ppm [22].

Budowa chemiczna metforminy pozwala na tworzenie się nitrozoamin podczas przechowywania. Rozkład związku poprzez tworzenie się wodoronadtlenku metforminy może prowadzić do tworzenia nitrozoamin przez utlenianie wewnątrzcząsteczkowe, co prowadzi do przegrupowań i reakcji fragmentacji. Ze względu na wysoką zawartość azotu w metforminie możliwe są liczne pozycje N-oksydacji. Ponadto, reakcje fragmentacji umożliwiają rozkład struktury molekularnej, co może prowadzić do powstania termodynamicznie stabilnych pochodnych nitrozoaminy [19].

EMA potwierdziła, że zanieczyszczenia metforminy dotyczyły produktów o przedłużonym uwalnianiu. Mechanizm powstawania zanieczyszczeń jednak nie był znany. Spowodowało to przeprowadzenie analiz, aby wskazać źródło zanieczyszczenia. Badania przeprowadzane przez naukowców w Warszawie, oprócz potwierdzenia obecności NDMA w gotowych produktach, miały na celu zbadanie mechanizmu ich powstawania. Jedną z hipotez zakładała wchodzenie w reakcje metforminy z resztkowymi azotynami lub azotanami podczas granulacji na mokro. Nie znalazło to jednak potwierdzenia w eksperymencie ogrzewania metforminy z azotynem sodu oraz azotanem sodu. Rozpatrywano również możliwość powstawania nitrozoamin w czasie blistrowania, gdyż podczas zgrzewania folii tabletki są narażone na podwyższoną temperaturę. Badano także hipotezę, że NDMA jest zanieczyszczeniem pochodzącym z atramentu do drukowania folii. Badania wykluczyły jednak te przypuszczenia, gdyż tabletki z metforminą badane przed blistrowaniem również zawierały poziom NDMA powyżej dopuszczalnego limitu, a NDMA jest zanieczyszczeniem występującym w całej masie tabletkowej, nie tylko powierzchniowo [18]. EMA potwierdziła, że zanieczyszczenia metforminy dotyczyły produktów o przedłużonym

uwalnianiu w produkcji końcowym. Brak zanieczyszczeń w metforminie *in substantia* wskazywał, że nitrozoaminy nie pochodzą z syntezy, lecz ich źródłem są procesy degradacji. Stwierdzono, że NDMA powstaje z metforminy w reakcji utlenienia w obecności związków alkalicznych, podwyższonej temperatury lub wysokiego ciśnienia [12].

Powyższe przypuszczenia dotyczące mechanizmu zanieczyszczenia były również rozważane przez naukowców z Kairu. Skupiono się na trzech głównych hipotezach obejmujących wykorzystanie wody i temperatury podczas granulacji oraz azotynów i azotanów znajdujących się w substancjach pomocniczych. Badania dostarczyły odpowiedzi, że za obecność kancerogennych związków w metforminie odpowiedzialne są wszystkie czynniki, ale dopiero połączone razem powodują powstanie NDMA [17].

### Ranitydyna i nizatydyna

Ranitydyna, będąca specyficznym antagonistą receptora histaminowego H<sub>2</sub> (**rycina 3B**), trafiła do lecznictwa w roku 1981, a już w roku 1988 była liderem sprzedaży wśród leków na receptę na świecie. Popularność tego leku zmalała dopiero po wprowadzeniu na rynek innych leków hamujących wydzielanie kwasu solnego przez komórki okładzinowe żołądka – inhibitorów pompy protonowej [23].

Już w latach 80. XX wieku na podstawie badań *in vitro* podejrzewano, że ranitydyna może tworzyć nitrozoaminy w organizmie człowieka [24]. W 2016 r. Zeng i Mitch opublikowali wyniki badań *in vivo*, które miały potwierdzać wytwarzanie NDMA przez nitrozację ranitydyny w żołądku. Ocenili wydalanie NDMA z moczem, jednakże okazało się, że ich wyniki analiz otrzymane metodą chromatografii gazowej są obarczone błędem i ten artykuł został wycofany na prośbę autorów [25]. W 2021 r. opublikowano wyniki badań klinicznych przeprowadzonych na 18 ochotnikach przyjmujących doustnie 300 mg ranitydyny lub placebo. Na podstawie badań próbek moczu stwierdzono, że nie zwiększyła się znacząco ilość wydalanego NDMA z moczem u uczestników spożywających ranitydynę [26].

W badaniach stabilności, wykonanych zgodnie z zaleceniami ICH, przeprowadzonych w Japonii wykazano, że NDMA jest produktem rozkładu ranitydyny zarówno *in substantia*, jak i w tabletkach, a ta reakcja rozkładu jest zależna od temperatury przechowywania leku [27]. Analizy przeprowadzone w firmie Glaxo-SmithKline potwierdziły te wyniki, dodając do

czynników, od których zależy reakcja, wilgotność względną powietrza i formę krystaliczną ranitydyny [28].

W roku 2019, po wykryciu niedopuszczalnych poziomów NDMA w niektórych doustnych preparatach ranitydyny, wstrzymano, a potem, w październiku 2019 r., wycofano z obrotu wszystkie produkty lecznicze z ranitydyną. Rok później EMA wydała dokument, w którym potwierdziła zawieszenie obrotu wszystkimi lekami z ranitydyną na terenie Unii Europejskiej [29]. W tym dokumencie EMA stwierdziła, że NDMA jest produktem rozkładu ranitydyny, a wyniki badań nad możliwością tworzenia się nitrozoamin w organizmie człowieka nie są jednoznaczne.

Niedostępna na polskim rynku farmaceutycznym nizatydyna (**rycina 3C**) jest analogiem ranitydyny, a także jej izosterem, tzn. jest związkiem chemicznym o tej samej liczbie elektronów, wykazuje podobne właściwości farmakologiczne co ranitydyna i taki sam mechanizm rozkładu, który prowadzi do powstawania NDMA [6, 12].

### Rifampicyna i ryfapentyna

Problem z zanieczyszczeniem szkodliwymi N-nitrozoaminami dotknął także antybiotyki makrolidowe z grupy ansamycyn, stosowanych m.in. w leczeniu i zapobieganiu gruźlicy. W rifampicynie wykryto 1-metylo-4-nitrozopiperazynę (MNP - **rycina 1F**), a w niedostępnej na rynku polskim ryfapentynie 1-cyklopentyl-4-nitrozopiperazynę (CPNP - **rycina 1G**). Stwierdzono, że są to zanieczyszczenia tworzące się jako produkty uboczne w wieloetapowej syntezie tych substancji leczniczych. Przyjmuje się, że MNP i CPNP są prawdopodobnie mniej szkodliwe niż NDMA, lecz FDA przyjęła te same limity poziomów dopuszczalnej zawartości tych nitrozoamin, tj. 96 ng/dzień, czyli uwzględniając dawki dobowe tych antybiotyków MNP nie powinna przekraczać 0,16 ppm, a CPNP 0,107 ppm odpowiednio w rifampicynie i ryfamycynie [16]. Ze

względu na fakt, że leki przeciwgruźlicze uznano za ratujące życie i ich brak byłby poważnym zagrożeniem dla zdrowia publicznego, FDA nie wycofała produktów leczniczych, które nie spełniały norm, lecz zaleciła producentom, aby obniżyli zawartość tych nitrozoamin do odpowiednio 5 i 14 ppm [16, 30].

Preparaty rifampicyny znajdujące się w obrocie na rynku polskim zarówno jednoskładnikowe, jak i te złożone, zawierające dodatkowo izoniazyd, nie były wycofywane z obrotu [31].

### Oznaczanie zanieczyszczeń

W 2019 roku EMA opracowała plan dla produktów leczniczych nie będących sartanami i zawierających pierścień tetrazolowy, gdzie występuje ryzyko zanieczyszczenia. Postępowanie to obejmuje trzy etapy, pierwszy z nich dotyczy oceny ryzyka obecności zanieczyszczeń w badanym produkcie. W przypadku stwierdzonego ryzyka, kolejny etap obejmuje przeprowadzenie badań mających na celu potwierdzenie bądź obalenie hipotezy dotyczącej obecności nitrozoamin. Użyte do tego celu metody muszą być odpowiednio czułe i zwalidowane. Ostatni etap zakłada zmiany procesu produkcyjnego i wprowadzenie kontroli mającej na celu ograniczenie zanieczyszczenia nitrozoaminami [33].

Opracowano wiele metod analitycznych umożliwiających ilościowe określenie poziomu nitrozoamin w substancjach i produktach leczniczych [6, 12, 13, 30, 32]. Jednak każda metoda musi zostać dostosowana indywidualnie do rodzaju substancji leczniczej i/lub sposobu formulacji produktu. Tym samym należy opracować sposób, a także walidację zgodnie z obowiązującymi normami, takimi jak ICH Q2 [33]. EMA i FDA opublikowały metody analityczne odpowiednie do wykrywania tylko NDMA w sartanach (GC/MS) oraz dodatkowo metodę jednoczesnego wykrywania NDMA i NDEA za pomocą UHPLC-MS/MS. FDA opublikowała także dwie metody umożliwiające oznaczenie

**Tabela 1.** Normy zawartości nitrozoamin w substancjach leczniczych z grupy sartanów według Farmakopei Europejskiej [20].

**Table 1.** Limits of nitrosamines content in medicinal substances from the group of sartans according to the European Pharmacopoeia [20].

Nazwa substancji leczniczej	Granica zawartości N-nitrozoaminy w substancji leczniczej [ppm]	
	NDMA	NDEA
Irbesartan	0,320	0,088
Kandesartan (cyleksetyl)	3,000	0,820
Losartan (sól potasowa)	0,640	0,177
Olmesartan (medoksomil)	2,400	0,663
Walsartan	0,300	0,082

zanieczyszczeń nitrozoaminami w produktach z metforminą: metoda LC-HRMS umożliwi wykrycie NDMA, natomiast LC-ESI-HRMS określa ilość ośmiu zanieczyszczeń nitrozoaminowych [16].

Do 10. wydania Farmakopei Europejskiej dodano rozdział ogólny (nr 2.5.42.) dotyczący analizy zanieczyszczeń z grupy *N*-nitrozoamin w substancjach czynnych, w którym podano trzy procedury umożliwiające analizę siedmiu nitrozoamin: *N*-nitrozodibutyloaminy (NDBA - **rycina 1H**), *N*-nitrozodietiloaminy, *N*-nitrozodiiizopropiloaminy, *N*-nitrozodimetyloaminy, *N*-nitrozodiiizopropiloaminy (NDPA - **rycina II**), *N*-nitrozoetyloizopropiloaminy (NEIPA - **rycina IJ**) i kwasu *N*-nitrozo-*N*-metylo-4-aminomasłowego (NMBA). Zmieniono także pięć monografii sartanów zawierających pierścień tetrazolowy, tj.: irbesartanu, kandesartanu, losartanu, olmesartanu, walsartanu. Zamieszczono w nich bardziej restrykcyjne normy zawartości NDMA i NDEA (**tabela 1**). Ustalono też dwuletni okres przejściowy, aby producenci leków dostosowali swoje procesy produkcyjne do tych wymagań tak, aby normy obowiązywały już w roku 2022 [20].

### Podsumowanie

W roku 2018, po odkryciu zanieczyszczeń nitrozoaminowych w lekach z grupy sartanów, okazało się, że zanieczyszczone produkty lecznicze mogły być spożywane przez pacjentów na świecie przez ponad 5 lat [1, 15]. Mimo poważnych obaw, co do ryzyka spowodowanego zażywaniem związków potencjalnie kancerogennych, zalecano, aby kontynuować terapię do czasu, aż lekarz lub farmaceuta zaproponuje zamiennik lub inną opcję leczenia, zamiast od razu odstawić zanieczyszczony lek, ponieważ nieleczone nadciśnienie prowadzi do wzrostu ryzyka zawału serca i udaru, a nieleczona niewydolność serca zwiększa ryzyko hospitalizacji i zgonu. Tym samym uznano, że utrzymanie leczenia jest priorytetem, mimo narażenia na możliwy czynnik rakotwórczy, który może pojawić się także w diecie, szczególnie przy nadmiernym spożyciu wędlin [14, 16]. Z tego samego powodu nie usunięto z rynku zanieczyszczonych antybiotyków z grupy ansamycyn [16]. Nie znaczy to, że zagrożenie zostało zbagatelizowane, przeprowadzono liczne badania analityczne i ustalono źródła problemu. Poprzez retrospektywne badania obserwacyjne ustalono ryzyko zachorowania na raka spowodowane zażywaniem nitrozoamin w lekach [15, 16]. Następnie w trybie pilnym wprowadzono nowe farmakopealne normy poziomu tych związków w substancjach i produktach leczniczych [20].

### Piśmiennictwo

1. Tatkiewicz J, Bujalska-Zadrozny M. Leki przeciwnadciśnieniowe a skażenie rakotwórczymi nitrozoaminami. *Folia Cardiologica* 2019; 14(6): 564–571.
2. Gushgari AJ, Halden RU. Critical review of major sources of human exposure to *N*-nitrosamines. *Chemosphere*. 2018; 210: 1124–1136. doi:10.1016/j.chemosphere.2018.07.098.
3. Majewska E, Kozłowska M, Lobacz M. Kancerogeny chemiczne w żywności. Część I. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*. 2011, 1, 71–75.
4. [https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/ich-guideline-m7r1-assessment-control-dna-reactive-mutagenic-impurities-pharmaceuticals-limit\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/ich-guideline-m7r1-assessment-control-dna-reactive-mutagenic-impurities-pharmaceuticals-limit_en.pdf). Dostęp 20.03.2022.
5. Jakszyn P, Agudo A, Berenguer A, Ibáñez R, Amiano P, Pera G, Ardanaz E, Barricarte A, Chirlaque MD, Dorronsoro M, Larrañaga N, Martínez C, Navarro C, Quirós JR, Sánchez MJ, Tormo MJ, González CA. Intake and food sources of nitrites and *N*-nitrosodimethylamine in Spain. *Public Health Nutr*. 2006; 9(6): 785–791. doi:10.1079/phn2005884.
6. Parr MK, Joseph JF. NDMA impurity in valsartan and other pharmaceutical products: Analytical methods for the determination of *N*-nitrosamines. *J Pharm Biomed Anal*. 2019; 164: 536–549. doi:10.1016/j.jpba.2018.11.010.
7. Shephard EA, Nawarskas JJ. Nitrosamine impurities in angiotensin receptor blockers. *Cardiol Rev*. 2020; 28(5): 262–265. doi:10.1097/CRD.0000000000000323.
8. Bharate SS. Critical analysis of drug product recalls due to nitrosamine impurities. *J Med Chem*. 2021; 64(6): 2923–2936. doi:10.1021/acs.jmedchem.0c02120
9. Li K, Ricker K, Tsai FC, et al. Estimated cancer risks associated with nitrosamine contamination in commonly used medications. *Int J Environ Res Public Health*. 2021; 18(18): 9465. doi:10.3390/ijerph18189465.
10. Ruepp R, Frötschl R, Bream R, et al. The EU Response to the presence of nitrosamine impurities in medicines. *Front Med (Lausanne)*. 2021; 8: 782536. doi:10.3389/fmed.2021.782536.
11. Tuesuwan B, Vongsutilers V. Nitrosamine contamination in pharmaceuticals: Threat, impact, and control. *J Pharm Sci*. 2021; 110(9): 3118–3128. doi:10.1016/j.xphs.2021.04.021.
12. Shaik KM, Sarmah B, Wadekar GS, Kumar P. Regulatory updates and analytical methodologies for nitrosamine impurities detection in sartans, ranitidine, nizatidine, and metformin along with sample preparation techniques. *Crit Rev Anal Chem*. 2022; 52(1): 53–71. doi:10.1080/10408347.2020.1788375.
13. Shephard EA, Nawarskas JJ. Nitrosamine impurities in angiotensin receptor blockers. *Cardiol Rev*. 2020; 28(5): 262–265. doi:10.1097/CRD.0000000000000323.
14. Snodin DJ, Elder DP. Short commentary on NDMA (*N*-nitrosodimethylamine) contamination of valsartan products. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2019; 103: 325–329. doi:10.1016/j.yrtph.2019.01.007.
15. Pottegård A, Kristensen K B, Ernst M T, Johansen N B, Quartarolo P, Hallas J et al. Use of *N*-nitrosodimethylamine (NDMA) contaminated valsartan products and risk of cancer: Danish nationwide cohort study *BMJ*. 2018; 362: k3851 doi:10.1136/bmj.k3851.
16. Elder DP, Johnson GE, Snodin DJ. Tolerability of risk: A commentary on the nitrosamine contamination issue. *J Pharm Sci*. 2021; 110(6): 2311–2328. doi:10.1016/j.xphs.2021.02.028A.
17. Nasr NEH, Metwaly MG, Ahmed EO, Fares AR, ElMeshad AN. Investigating the root cause of *N*-nitrosodimethylamine formation in metformin pharmaceutical products. *Expert Opin Drug Saf*. 2021; 20(7): 855–862. doi:10.1080/14740338.2021.1917547.
18. Zmysłowski A, Książek I, Szterk A. *N*-Nitrosodimethylamine Contamination in the metformin finished products. *Molecules*. 2020; 25(22): 5304. doi:10.3390/molecules25225304.
19. Sedlo I, Koloniec T, Tomić S. Presence of nitrosamine impurities in medicinal products. *Arh Hig Rada Toksikol*. 2021; 72(1): 1–5. doi:10.2478/aiht-2021-72-3491.
20. *European Pharmacopoeia*, 10 ed. Strasbourg: Council of Europe, 2019.
21. Douša M, Jireš J. HILIC-MS determination of dimethylamine in the active pharmaceutical ingredients and in the dosage forms of metformin. *J Pharm Biomed Anal*. 2020; 191: 113573. doi:10.1016/j.jpba.2020.113573.
22. Jireš J, Kalásek S, Gibala P, et al. Insight into the formation of *N*-nitrosodimethylamine in metformin products. *J Pharm Biomed Anal*. 2021; 195: 113877. doi:10.1016/j.jpba.2020.113877.

23. Wright R. How Zantac became the best-selling drug in history. *J Health Care Mark.* 1996; 16(4): 24–29.
24. De Flora S, Bennicelli C, Camoirano A, Zanacchi P. Genotoxicity of nitrosated ranitidine. *Carcinogenesis* 1983; 4(3): 255–260. doi:10.1093/carcin/4.3.255.
25. Zeng T, Mitch WA. Oral intake of ranitidine increases urinary excretion of N-nitrosodimethylamine [wycofano: *Carcinogenesis*. 2021 Jul 16;42(7):1008]. *Carcinogenesis*. 2016;37(6):625–634. doi:10.1093/carcin/bgw034
26. Florian J, Matta MK, DePalma R, et al. Effect of Oral Ranitidine on Urinary Excretion of N-Nitrosodimethylamine (NDMA): A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2021; 326(3): 240–249. doi:10.1001/jama.2021.9199.
27. Abe Y, Yamamoto E, Yoshida H, et al. Temperature-dependent formation of N-nitrosodimethylamine during the storage of ranitidine reagent powders and tablets. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2020; 68(10): 1008–1012. doi:10.1248/cpb.c20-00431.
28. King FJ, Searle AD, Urquhart MW. Ranitidine – Investigations into the root cause for the presence of n-nitroso-N,N-dimethylamine in ranitidine hydrochloride drug substances and associated drug products. *Org Process Res Dev.* 2020; 24(12): 2915–2926. doi.org/10.1021/acs.oprd.0c00462.
29. [https://www.ema.europa.eu/documents/referral/ranitidine-article-31-referral-ema-confirms-recommendation-suspend-all-ranitidine-medicines-eu\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/referral/ranitidine-article-31-referral-ema-confirms-recommendation-suspend-all-ranitidine-medicines-eu_en.pdf). Dostęp 20.03.2022.
30. Wohlfart J, Scherf-Clavel O, Kinzig M, Sörgel F, Holzgrabe U. The nitrosamine contamination of drugs, part 3: Quantification of 4-Methyl-1-nitrosopiperazine in rifampicin capsules by LC-MS/HRMS. *J Pharm Biomed Anal.* 2021; 203: 114205. doi:10.1016/j.jpba.2021.114205.
31. <https://rdg.ezdrowie.gov.pl/dostep> 20.03.2022.
32. Schmidtsdorff S, Schmidt AH. Simultaneous detection of nitrosamines and other sartan-related impurities in active pharmaceutical ingredients by supercritical fluid chromatography. *J Pharm Biomed Anal.* 2019; 174: 151–160. doi:10.1016/j.jpba.2019.04.049.
33. Fritzsche M, Blom G, Keitel J, et al. NDMA analytics in metformin products: Comparison of methods and pitfalls. *Eur J Pharm Sci.* 2022; 168: 106026. doi:10.1016/j.ejps.2021.106026.