

# Regulatorni aspekti nitrozaminskih onečišćenja u lijekovima

---

Premuš Pogačar, Vanina

Professional thesis / Završni specijalistički

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:001270>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-26**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Vanina Premuš Pogačar

**Regulatorni aspekti nitrozaminskih onečišćenja u lijekovima**

**Specijalistički rad**

Zagreb 2023.

PSS studij: „Razvoj lijekova“

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Ivan Pepić

Specijalistički rad obranjen je dana 27.09.2023. pred povjerenstvom u sastavu:

1. izv. prof. dr. sc. Miranda Sertić

2. izv. prof. dr. sc. Ivan Pepić

3. dr. sc. Maja Lusina Kregar

Rad ima 97 listova

Ovaj specijalistički rad je prijavljen na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu i izrađen na Zavodu za farmaceutsku tehnologiju pod stručnim vodstvom izv. prof. dr. sc. Ivana Pepića.

*Zahvaljujem svom mentoru izv. prof. dr. sc. Ivanu Pepiću na stručnom vodstvu, savjetima i pomoći prilikom izrade ovog specijalističkog rada.*

*Veliko hvala kolegama na pomoći i podršci tijekom studija kao i mojoj obitelji, posebice Jaki, na razumijevanju, ljubavi te vjeri u moj uspjeh.*

## SAŽETAK

### **Cilj istraživanja**

Cilj ovog specijalističkog rada bio pregledno prikazati, analizirati i raspraviti pojavu nitrozaminskih onečišćenja u lijekovima te posljedične regulatorne smjernice Europske agencije za lijekove i Europske komisije.

### **Materijal i Metode**

Literatura je pretraživana prema temi istraživanja, predmetu istraživanja, autorima i časopisu, od općih prema specijaliziranim člancima pri čemu su odabrani članci i smjernice relevantne za problematiku specijalističkog rada. Pri pretraživanju literature i prikupljanju relevantnih podataka za izradu specijalističkog rada korištene su on-line baze podataka (PubMed, ScienceDirect, Elsevier, mrežna stranica Agencije za lijekove i medicinske proizvode i mrežne stranice Europske agencije za lijekove) te relevantne smjernice vezane za nitrozaminska onečišćenja. U ovom dijelu rada predstavljen je sustavni pregled saznanja o nitrozaminskim onečišćenjima u lijekovima.

### **Rezultati**

Nitrozamini su odavno poznati kao kancerogene tvari prisutne u hrani, kozmetici te duhanskom dimu, no otkriće nitrozamina u valsartanu 2018. godine dovelo je do detaljnijih analiza koje su ukazale na raširenu prisutnost nitrozamina i u lijekovima. Pronalazak nitrozaminskih onečišćenja u valsartanu potaknuo je niz regulatornih akcija koji su isprva bili ograničeni na skupinu sartana s tetrazolnim prstenom, ali su se vrlo brzo proširili i na druge lijekove. Isprva su se provjeravale djelatne tvari, ali ubrzo se pokazalo da nitrozamini mogu biti prisutni i u gotovom lijeku te da postoji čitav niz potencijalnih uzroka prisutnosti nitrozamina. S obzirom na kancerogeni potencijal nitrozamina takvim otkrićem javila se zabrinutost od strane regulatornih agencija diljem svijeta. Europska agencija za lijekove provela je opsežnu istragu

uzroka prisutnosti nitrozamina te metoda prevencije nastanka, detekcije i kontrole. U periodu od 2018. do 2023. uspostavljene su brojne smjernice i sigurnosne granične vrijednosti za nitrozamine u lijekovima. Granične vrijednosti su se mijenjale kako su se saznanja i istraživanja razvijali. Taj posao nije završen, i dalje se svako malo otkrije neki novi nitrozamin specifičan za određenu djelatnu tvar ili lijek, a regulatorne agencije kao i farmaceutska industrija morat će biti u toku s novim saznanjima te prilagođavati svoje smjernice i procese.

## **Zaključak**

Kao regulatorni rezultat istrage nitrozamina nositelji odobrenja svih lijekova (kemijskih i bioloških) na tržištu Europske unije dužni su provesti procjenu rizika prisutnosti nitrozamina. Ako se potvrdnim ispitivanjima dokaže prisutnost nitrozamina u razini višoj od propisanih dnevnih limita, nositelji odobrenja dužni su putem izmjena/e odobrenja za stavljanje lijeka u promet prilagoditi proizvodne procese kako bi se prisutnost nitrozamina uklonila ili smanjila na minimum. Budući da kontaminacija nitrozaminima utječe na pacijente diljem svijeta, regulatorna tijela Europske unije, poput EMA-e, surađuju s međunarodnim partnerima i nastavit će poduzimati potrebne mjere kako bi osigurali da se proizvođači i nositelji odobrenja za stavljanje u promet pridržavaju preporuka u vezi s nitrozaminima i drugim onečišćenjima, istovremeno osiguravajući da pacijenti imaju pristup sigurnim i učinkovitim lijekovima.

## SUMMARY

### **Objectives**

The aim of this expert thesis is to present, analyze and discuss the occurrence of nitrosamine contaminants in medicines and related regulatory guidelines of the European Medicines Agency and the European Commission.

### **Material and Methods**

The literature was searched according to the research topic, research subject, authors and journal, from general to specialized articles, with selected articles and guidelines relevant to the issue of specialist work. Online databases (PubMed, ScienceDirect, the website of the Agency for Medicines and Medical Products and the website of the EMA) and relevant guidelines related to nitrosamine impurities were used when searching the literature and collecting relevant data for the preparation of this paper.

### **Results**

Nitrosamines have long been known as carcinogenic substances present in food, cosmetics and tobacco smoke, but the discovery of nitrosamines in valsartan in 2018 led to more detailed analyzes that indicated the widespread presence of nitrosamines in medicinal products as well. The discovery of nitrosamine impurities in valsartan triggered a series of regulatory actions that were initially limited to the group of sartans with a tetrazole ring, but very quickly spread to other drugs as well. At first, the active substances were checked, but it soon became clear that nitrosamines can also be present in the finished medicine and that there is a whole series of potential causes of the presence of nitrosamines. Given the carcinogenic potential of nitrosamines, this discovery has raised concerns from regulatory agencies around the world. The European Medicines Agency has conducted an extensive investigation into the causes of the presence of nitrosamines and methods of prevention, detection and control. In the period

from 2018 to 2023, numerous guidelines and safety limits for nitrosamines in medicines were established. These boundaries changed as knowledge and research developed. This work is not finished, every now and then a new nitrosamine specific for a certain active substance or medicine is discovered, and regulatory agencies as well as the pharmaceutical industry will have to keep up with new knowledge and adjust their guidelines and processes.

## **Conclusion**

As a regulatory result of the investigation of nitrosamines, the holders of the approval of all drugs on the European Union market, both chemical and biological, are obliged to carry out a risk assessment of the presence of nitrosamines. If the confirmatory tests prove the presence of nitrosamines at a level higher than the prescribed daily limits, the authorization holders are obliged to adjust the production processes in order to remove or reduce the presence of nitrosamines to a minimum by means of variations to the marketing authorization. As nitrosamine contamination affects patients worldwide, EU regulatory bodies such as the EMA are working with international partners and will continue to take the necessary measures to ensure that manufacturers and marketing authorization holders comply with nitrosamine recommendations and other impurities, while ensuring that patients have access to safe and effective medicines

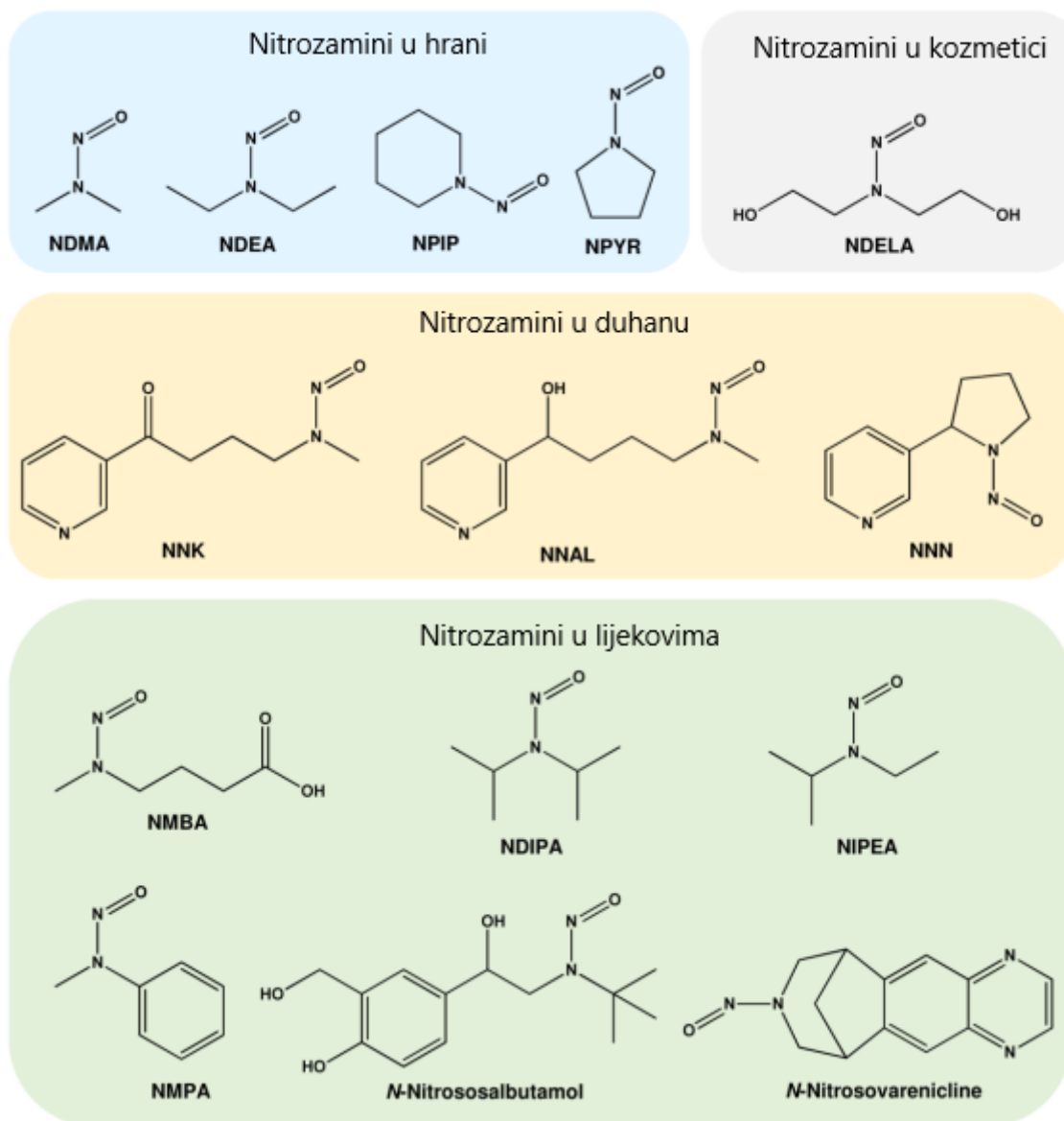


## Sadržaj

<b>1. Uvod i pregled područja istraživanja</b> .....	9
<b>2. Cilj istraživanja</b> .....	16
<b>3. Materijal i metode – Sustavni pregled saznanja o temi</b> .....	17
3.1 Kancerogenost nitrozamina .....	17
3.2 ICH M7(R1) smjernica.....	19
3.3 Faktori rizika nastanka nitrozamina .....	21
3.3.1 Povezani s djelatnom tvari.....	21
3.3.2 Povezani s gotovim lijekom .....	22
3.3.3 Povezani s aspektima dobre proizvođačke prakse (GMP) .....	23
3.4 Valsartan i sartani .....	25
3.5 Ranitidin .....	33
3.6 Metformin.....	52
3.7 Champix .....	56
3.8 Regulatorni odgovor „Call for review“ .....	58
3.8.1 Prvi korak - Procjena rizika.....	59
3.8.2 Drugi korak - Potvrдно ispitivanje .....	59
3.8.3 Treći korak - Izmjena odobrenja .....	61
3.9 Analitičke metode detekcije nitrozamina .....	64
3.10 Propisani limiti nitrozamina u lijekovima .....	67
3.11 Pristup Europske regulatorne mreže za lijekove za provedbu mišljenja CHMP-a u skladu s člankom 5(3) Uredbe (EZ) br. 726/2004 za nitrozaminska onečišćenja u lijekovima za humanu primjenu .....	71
3.11.1 Postavljanje ograničenja za N-nitrozamine za lijekove za humanu primjenu .....	71
3.11.2 Opća načela kojih se trebaju pridržavati farmaceutske tvrtke .....	72
3.11.3 Postupak za detekciju N-nitrozamina u lijekovima .....	73
3.11.4 Usklađivanje pristupa i postavke scenarija.....	73
3.11.5 Scenariji kao ishodi procjene rizika od strane nositelja odobrenja: .....	74
3.12 EDQM ovjernice i odgovor na nitrozaminska onečišćenja .....	84
<b>4. Rasprava</b> .....	87
<b>5. Zaključak</b> .....	88
<b>6. Literatura</b> .....	89
<b>7. Životopis</b> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

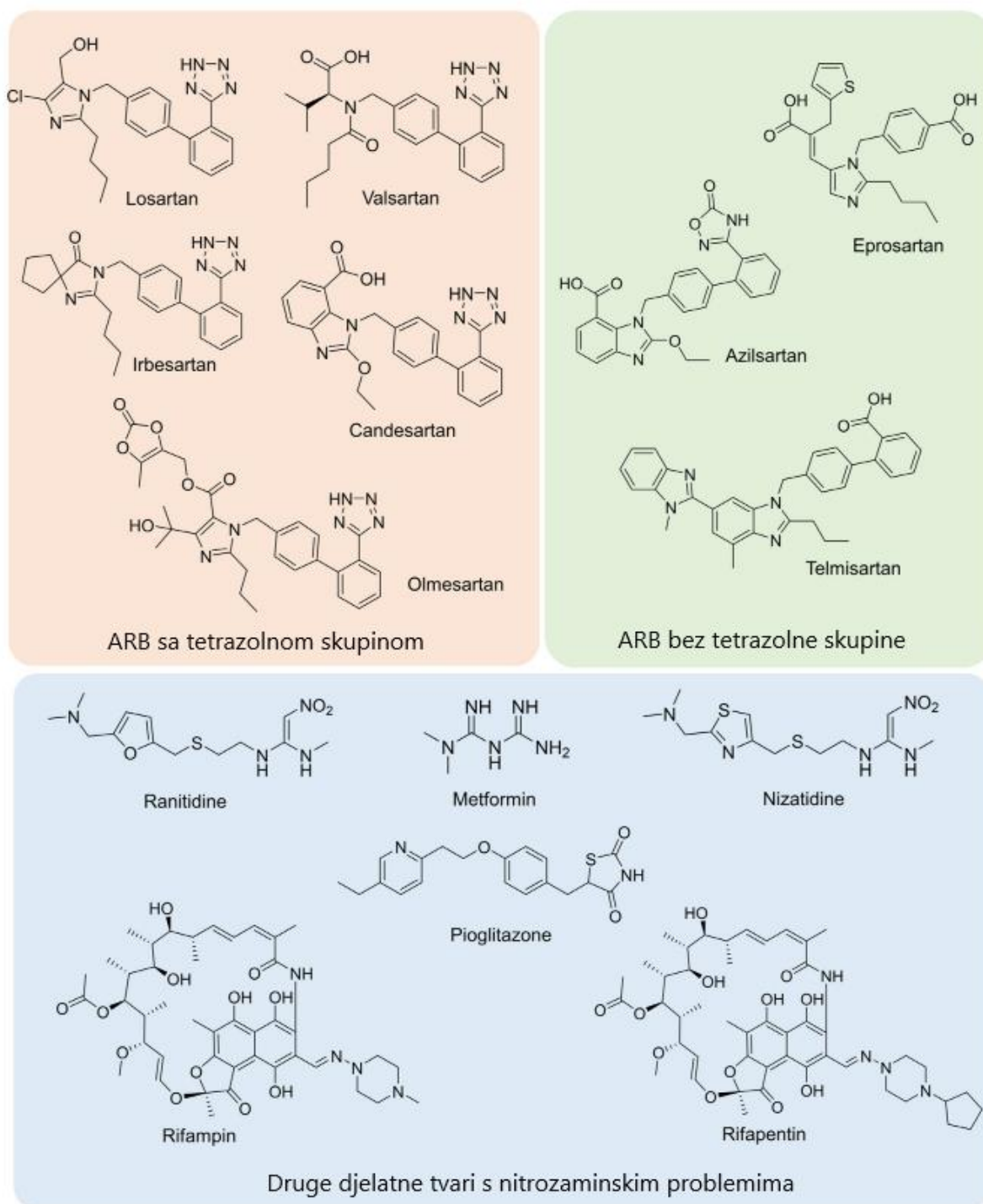
## 1. Uvod i pregled područja istraživanja

Nitrozamini su grupa spojeva koja se sastoji od nitrata i amina. Ovi spojevi mogu biti prisutni u različitim proizvodima, uključujući hranu, vodu, kozmetiku, pesticide, duhan ili plastiku. Nitrozamini se obično formiraju tijekom procesa proizvodnje ili prerade, kada se nitrati i amini kombiniraju pod određenim uvjetima, poput visoke temperature i prisutnosti kiselina [1,2]. Mnogi nitrozamini su potentni mutageni i kancerogeni, a povezuju se s više vrsta karcinoma u ljudi [3,4,5].



**Slika 1.** Kemijska struktura važnih nitrozamina pronađenih u hrani, kozmetici, duhanskom dimu i lijekovima. NDMA: N-nitrozodimetilamin; NDEA: N-nitrozodietilamin; NPIP: N-nitrozopiperidin; NPYR: N-nitrozopirolidin; NDELA: N-nitrozodietanolamin; NNK: nitrozamin keton izveden iz nikotina; NNAL: nitrozamin alkohol izveden iz nikotina; NNN: N-nitrozonornikotin; NMBA: N-nitrozo-N-metil-4-aminobutanska kiselina; NDIPA: N-nitrozodiizopropilamin; NIPEA: N-nitrozoetilizopropilamin; NMPA: N-nitrozometilfenilamin (prilagođeno prema literaturnom navodu 6).

Prva prisutnost nitrozamina u lijekovima otkrivena je 2018. godine kad je u valsartanu, lijeku koji se široko koristi za kontrolu povišenog krvnog tlaka, pronađeno onečišćenje N-nitrozodimetilamina (NDMA). Otkriće nitrozaminskih onečišćenja u valsartanu bilo je rezultat rutinske kontrole kakvoće proizvođača lijeka. Kao regulatorni odgovor na to otkriće, valsartan proizvođača Zhejiang Huahai Pharmaceutical iz Kine, gdje je prvo onečišćenje otkriveno, povučen je s tržišta Europske unije. Ubrzo nakon detektirana je prisutnost i drugog nitrozamina, N-nitrozodietilamin (NDEA) [7]. Nastavno na ova otkrića Europska komisija zatražila je procjenu svih lijekova koji sadrže valsartan koja se ubrzo proširila na ostale blokatore angiotenzin receptora, poput losartana, olmesartana, irbesartana te kandesartana. NDMA, ali i drugi nitrozamini, pronađeni su i u ovim lijekovima, prvenstveno sartanima koji sadrže tetrazolne prstene [1].



**Slika 2.** Struktura djelatnih tvari povezanih s nitrozaminskim onečišćenjima. ARB: blokatori angiotenzinskih receptora (engl. *angiotensin receptor blockers*) (prilagođeno prema literaturnom navodu 8).

Aktiviran je članak 31 Direktive 2001/83/EC (arbitražni postupak, engl. *referral*) zadužen za procjenu rizika i koristi u slučaju zabrinutosti povezanih s kakvoćom, sigurnošću ili

djelotvornošću lijeka ili skupine lijekova. Europska agencija za lijekove (EMA) tada je zadužila stručnjake Povjerenstva za lijekove za primjenu kod ljudi (CHMP) koji su zatim proveli opsežnu znanstvenu procjenu u svrhu formiranja harmoniziranog stava zemalja članica Europske unije. Kao rezultat toga izdano je izvješće o procjeni na temelju članka 5(3) Regulative EC (No) 726/2004 na temu Nitrozaminska onečišćenja u lijekovima za humanu primjenu.

Izvješće o procjeni na temelju članka 5(3) Regulative EC (No) 726/2004 pružilo je opće smjernice i preporuke o ublažavanju i sprječavanju prisutnosti nitrozamina u lijekovima za humanu primjenu. Svi nositelji odobrenja/podnositelji zahtjeva za lijekove za humanu primjenu trebali bi surađivati s proizvođačima svojih djelatnih tvari i gotovog lijeka kako bi osigurali da je prisutnost onečišćenja nitrozaminima u njihovim lijekovima smanjena i kontrolirana na ili ispod granice definirane na temelju načela ICH M7(R1). Moraju uzeti u obzir dnevnu izloženost tijekom cijelog života i održavati je što je moguće nižoj razini te osigurati da su poduzete odgovarajuće mjere za smanjenje rizika.

Sartani su bili samo početak, ubrzo nakon, onečišćenja NDMA otkrivena su i u ranitidinu, antagonistu receptora H<sub>2</sub>, lijeku korištenom prvenstveno za smanjenje želučane kiseline te žgaravice. Kada se pokazalo da neki lijekovi s ranitidinom sadrže NDMA u koncentracijama višim od prihvatljive dnevne granice unosa EMA je započela još jednu reviziju, svih lijekova koji sadrže ranitidin. Ukazali su se neki dokazi da NDMA može nastati razgradnjom samog ranitidina s povećanjem razina tijekom njegovog roka valjanosti. Nije posve jasno može li se NDMA također formirati iz ranitidina unutar tijela. Kao mjeru predostrožnosti CHMP je preporučio povlačenje lijekova koji sadrže ranitidin s tržišta Europske unije [9,10,11].

Zaključak revizije ranitidina naložio je da bi nositelji odobrenja trebali proširiti svoju procjenu rizika na sve lijekove koji sadrže kemijski sintetiziranu djelatnu tvar. 2020. godine nitrozaminska onečišćenja pronađena su i u lijekovima koji sadrže rifampicin i rifapentin,

lijekovima korištenim za liječenje tuberkuloze i drugih bakterijskih infekcija. Regulatorna tijela u svijetu pooštrila su testiranje lijekova na nitrozaminska onečišćenja, a proizvođači su povukli iz prodaje mnoge lijekove zbog zabilježenih prekoračenja sigurnosnih limita. Ovo je imalo značajan utjecaj na opskrbu tržišta, a pacijenti su morali tražiti alternativne lijekove za svoje zdravstvene potrebe [12].

Dodatno, osim svih lijekova koji sadrže kemijski sintetizirane djelatne tvari, CHMP je zatražio proširenje i na biološke djelatne tvari. Iako se rizik od nitrozaminskih onečišćenja u biološkim lijekovima smatra vrlo niskim ipak postoje određeni faktori koje treba uzeti u obzir. Ti faktori uključuju biološke lijekove koji sadrže kemijski sintetizirane fragmente, kod kojih su prisutni čimbenici rizika slični kemijski sintetiziranim djelatnim tvarima, zatim biološke lijekove koji koriste procese u kojima se namjerno dodaju nitrozirajući reagensi te biološke lijekove pakirane u određeni primarni materijal za pakiranje, kao što su blister pakiranja koja sadrže nitrocelulozu [8].

Izloženost nitrozaminima kroz pušenje duhana jedan je od većih izvora izloženosti ovim tvarima. Nitrozamini nastaju tijekom procesa sušenja duhana i reakcijom dušikovih oksida s drugim kemijskim spojevima u duhanu. Neki od nitrozamina koji se nalaze u duhanu su N-nitrosonornikotin (NNN), N-nitrosoanabazin (NAB), N-nitrosoanatabin (NAT) i 4-(metilnitrozamino)-1-(3-piridil)-1-butanon (NNK). Champix, djelatne tvari vareniklin, lijek je koji se koristi za pomoć u prestanku pušenja. U prosincu 2020. godine, EMA je objavila da su u nekim serijama Champixa pronađene male količine nitrozaminskih onečišćenja, posebno N-nitroso-vareniklina. Iako su količine pronađenih onečišćenja bile male, EMA je preporučila povlačenje određenih serija Champixa s tržišta. EMA je također zatražila da se ispita prisutnost nitrozaminskih onečišćenja u ostalim lijekovima koji sadrže vareniklin. Tvrtka koja proizvodi Champix, Pfizer, pokrenula je istragu kako bi utvrdila uzrok i obujam onečišćenja te osigurala da se u budućnosti takvi slučajevi spriječe [3].

EMA je objavila u veljači 2021. godine da je pokrenula procjenu metformina koji su proizveli određeni proizvođači nakon što je u nekim uzorcima otkriveno visoko onečišćenje N-nitrozodimetilamina (NDMA). Metformin je antidijabetik koji se koristi za liječenje dijabetesa tipa 2, obično je prva linija terapije za bolesnike s ovim stanjem. Nije bilo povlačenja lijekova metformina zbog pitanja o nitrozaminima. Umjesto toga, EMA je dala preporuke za kontrolu prisutnosti nitrozamina u metforminu i drugim lijekovima za dijabetes. Također je utvrdila granične vrijednosti za nitrozamine u ovim lijekovima. EMA je upozorila na to da rizici neadekvatnog liječenja dijabetesa daleko nadilaze moguće posljedice izloženosti niskim razinama NDMA-e uočenim u ispitivanjima [7].



## 2. Cilj istraživanja

Cilj ovog specijalističkog rada je pregledno prikazati, analizirati i raspraviti pojavu nitrozaminskih onečišćenja u lijekovima, kao i povezane regulatorne smjernice Europske agencije za lijekove (EMA) i Europske komisije.

Nitrozaminska onečišćenja predstavljaju ozbiljan problem u farmaceutskoj industriji zbog njihove potencijalne karcinogenosti. Kroz ovaj rad, detaljno su se analizirali različiti aspekti ovog problema kako bi se pružio cjelovit uvid u njegovu važnost.

Zatim su dublje analizirani farmaceutski proizvodi koji su bili onečišćeni nitrozaminima, pružajući primjere i studije slučaja kako bi se ilustrirale stvarne situacije. To uključuje primjere lijekova koji su povučeni s tržišta ili podvrgnuti povlačenju zbog prisutnosti nitrozamina.

Dalje, rad se usmjerio na regulatorne smjernice koje su izdane od strane Europske agencije za lijekove (EMA) i Europske komisije kako bi se nosile s ovim problemom. Detaljno su opisane smjernice za kontrolu i testiranje nitrozamina u farmaceutskim proizvodima, kao i koraci koje farmaceutske tvrtke trebaju poduzeti kako bi osigurale da njihovi proizvodi budu sigurni za pacijente.

### 3. Materijal i metode – Sustavni pregled saznanja o temi

Literatura je pretraživana prema temi istraživanja, predmetu istraživanja, autorima i časopisu, od općih prema specijaliziranim člancima pri čemu su odabrani članci i smjernice relevantne za problematiku specijalističkog rada. Pri pretraživanju literature i prikupljanju relevantnih podataka za izradu specijalističkog rada korištene su on-line baze podataka PubMed, ScienceDirect te Elsevier koristeći ključne riječi poput „nitrosamines“, „N-nitrosamines“, „nitrosamines impurities“, „nitrosamines + medicinal products“, „nitrosamines + drugs“, „N-nitrosodimethylamine“, „N-nitrosodiethylamine“. Pretražena je i mrežna stranica Agencije za lijekove i medicinske proizvode te mrežne stranice Europske agencije za lijekove te relevantne smjernice vezane za nitrozaminska onečišćenja. U ovom dijelu rada predstavljen je sustavni pregled saznanja o nitrozaminskim onečišćenjima u lijekovima.

#### 3.1 Kancerogenost nitrozamina

Nitrozamini postaju kancerogeni nakon što se u organizmu metaboliziraju u reaktivne spojeve koji oštećuju DNA i uzrokuju mutacije. Konkretno, nitrozamini se mogu aktivirati enzimima citokroma P450 u jetri i drugim tkivima, što dovodi do nastanka reaktivnih spojeva poput metil diazohidroksida, koji se vezuju za DNA i uzrokuju oštećenja. Takva oštećenja, ako nisu popravljena, mogu dovesti do nekontroliranog rasta stanica i razvoja karcinoma. Nitrozamini se metaboliziraju u tijelu na nekoliko različitih načina. Jedan od njih je biotransformacija koja uključuje enzime citokroma P450, kao i enzime peroksidaze i reduktaze. Glavni mehanizam metabolizma nitrozamina uključuje oksidativnu dealkilaciju koja dovodi do stvaranja reaktivnih i kancerogenih međuproizvoda [5].

Mnogi se nitrozamini metaboliziraju pomoću citokroma P450, od kojih je jedan (P450IIE1) dobio veliku pozornost zbog svoje uloge u metaboličkoj aktivaciji N-nitrozodimetilamina. Ovaj enzim postoji kod čovjeka, štakora, miša, hrčka i drugih životinjskih vrsta. Može se izazvati postom, dijabetesom i izlaganjem etanolu, acetonu, izoniazidu, benzenu i drugim kemikalijama. Osim što je P450IIE1 glavni enzim koji katalizira metaboličku aktivaciju ovog karcinogena., P450IIE1 je najaktivnija vrsta P450 poznata u metabolizmu N-nitrozoetilmetilamina i N-nitrozopirolidina. U metabolizmu N-nitrosobutilmetilamina, P450IIE1 preferirano oksidira metilnu skupinu u odnosu na butilnu skupinu, dok P450IIB1 učinkovito oksidira i metilnu i butilnu skupinu. P450IIB1 također katalizira alfa-oksigenaciju i pentilne i metilne skupine N-nitrozopentilmetilamina, stvarajući pentaldehid i formaldehid u omjeru 2:1, kao i oksigenaciju na drugim ugljicima pentilne skupine. Mnogi nitrozamini se učinkovito aktiviraju u nehepatičkim ciljnim tkivima [13].

Prema određenim studijama rizik od raka kod NDMA premašuje mnoge poznate jake karcinogene, uključujući azbest, benzo[a]piren i poliklorirane bifenile [2]. NDMA je moćan mutagen karcinogen kod brojnih različitih životinjskih vrsta. Na temelju podataka na životinjama (štakori su najosjetljivija vrsta), Međunarodna agencija za istraživanje raka (engl. *International Agency for Research on Cancer - IARC*) je NDMA klasificirao kao "vjerojatno kancerogen za ljude" (klasa 2A kancerogen). Ovu klasifikaciju koristi IARC kada postoje "ograničeni dokazi o karcinogenosti kod ljudi i dovoljni dokazi o karcinogenosti kod pokusnih životinja".

Utjecaj NDMA na ljudsko zdravlje trenutno se ekstrapolira samo iz studija na životinjama. Međutim, budući da su mehanizmi oštećenja DNA dokumentirani u ovim studijama također relevantni za ljude, a *in vitro* podaci u ljudskim stanicama nisu značajno različiti od onih u životinjskim stanicama, razumno je pretpostaviti da se učinci uočeni kod životinja mogu pojaviti i kod ljudi nakon izlaganja dovoljno velikim količinama ovog nitrozamina [14].

### 3.2 ICH M7(R1) smjernica

ICH (engl. *International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use*) je međunarodno tijelo koje se bavi harmonizacijom tehničkih zahtjeva za lijekove za humanu primjenu. Osnovano je 1990. godine u cilju postizanja globalne harmonizacije u području razvoja, registracije i upravljanja lijekovima.

ICH okuplja regulatorna tijela, farmaceutske industrije i znanstvene organizacije iz Europe, Sjeverne Amerike i Japana, te zajedno rade na izradi smjernica koje olakšavaju razvoj i registraciju lijekova na globalnoj razini.

Smjernice koje je ICH izradio obuhvaćaju različita područja kao što su kemijska i farmaceutska kakvoća, neklinička ispitivanja, klinička ispitivanja, sigurnost lijekova, te registracija i upravljanje lijekovima nakon što su pušteni u promet. Smjernice su prihvaćene u mnogim zemljama svijeta, te pridonose uspostavljanju zajedničkih standarda u farmaceutskoj industriji.

#### ICH M7(R1) smjernica - Procjena i kontrola DNA reaktivnih (mutagenih) onečišćenja u lijekovima za ograničavanje potencijalnog kancerogenog rizika

ICH M7(R1) smjernica odnosi se na procjenu i kontrolu rizika od mutagenih onečišćenja (MO) u farmaceutskim proizvodima. MO su neželjene tvari koje mogu nastati tijekom proizvodnje ili skladištenja lijeka, a koje imaju potencijal da uzrokuju mutacije u stanicama organizma. Kako bi se osigurala sigurnost pacijenata, potrebno je identificirati i procijeniti rizik od MO-a te poduzeti odgovarajuće mjere za kontrolu tih tvari u farmaceutskim proizvodima.

ICH M7(R1) smjernica pruža okvir za procjenu i kontrolu rizika od MO-a u farmaceutskim proizvodima. Smjernica opisuje postupak identifikacije MO-a te metode procjene rizika i uspostavljanja graničnih vrijednosti za MO. Također se daje pregled metoda za kontrolu MO-

a u proizvodnji lijekova, uključujući procese čišćenja, analizu sirovina i gotovih proizvoda, te kriterije prihvatljivosti MO-a.

ICH M7(R1) smjernica je važna za farmaceutske tvrtke koje razvijaju i gotove lijekove, kao i za regulatorna tijela koja odobravaju lijekove za upotrebu. Smjernica pomaže u osiguravanju sigurnosti pacijenata te promiče globalnu harmonizaciju u području procjene i kontrole rizika od MO-a u farmaceutskim proizvodima.

Svi nositelji odobrenja/podnositelji zahtjeva za lijekove za humanu primjenu trebali bi surađivati s proizvođačima svojih djelatnih tvari i gotovog lijeka kako bi osigurali da se prisutnost nitrozaminskih onečišćenja u njihovim lijekovima smanji što je više moguće te da se kontrolira na ili ispod granice definirane na temelju načela ICH M7(R1) za tvari „kohorte koja izaziva zabrinutost” izračunate uzimajući u obzir dnevnu izloženost tijekom cijelog života i održavane što je niže moguće te da su poduzete odgovarajuće mjere za smanjenje rizika.

### 3.3 Faktori rizika nastanka nitrozamina

#### 3.3.1 Povezani s djelatnom tvari

1. **Upotreba nitritnih soli i estera** (npr.  $\text{NaNO}_2$ , alkil nitriti) ili drugih nitrozirajućih sredstava (npr. nitrozo halidi, nitrozonijeve soli, dušikovi oksidi, nitro alkani, halogenirani nitro alkani, Fremyjeva sol, nitrozo sulfonamidi), u **prisutnosti sekundarnih ili tercijarnih amina** unutar istih ili različitih koraka procesa proizvodnje. Izvori sekundarnih ili tercijarnih amina također mogu biti početni materijali, međuproizvodi, reagensi, otapala (npr. DMF, DMAc i NMP) i katalizatori, koji sadrže aminske funkcionalnosti, aminska onečišćenja (npr. kvaterne amonijeve soli) ili koji su podložni razgradnji da bi se otkrili amini.
2. Stvaranje nitrita **oksidacijom hidrosilamina** ili oslobađanjem nitrita iz nitro-aromatskih prekursora (npr. denitracijom fluora), u prisutnosti sekundarnih ili tercijarnih amina unutar istog ili različitih koraka proizvodnog procesa.
3. Upotreba dezinficirane **vode** (kloriranje, kloro-aminacija, ozonizacija) u prisutnosti sekundarnih ili tercijarnih amina unutar istog ili različitih koraka proizvodnog procesa.
4. **Oksidacija hidrazina, hidrazida i hidrazona** hipokloritom, zrakom, kisikom, ozonom i peroksidima u procesu proizvodnje ili tijekom skladištenja. Korištenje kontaminiranih sirovina u procesu proizvodnje djelatne tvari (npr. otapala, reagensi i katalizatori).
5. Korištenje **kontaminiranih obnovljenih ili recikliranih materijala** (npr. otapala, reagensi i katalizatori).
6. Korištenje kontaminiranih **početnih materijala i međuproizvoda** koje isporučuju dobavljači koji koriste procese ili sirovine koji mogu sadržavati zaostale nitrozamine ili nitrozirajuća sredstva.
7. **Prijenos nitrozamina** koji su namjerno stvoreni (npr. kao početni materijali ili međuproizvodi) tijekom procesa proizvodnje.

### 3.3.2 Povezani s gotovim lijekom

8. Reakcija nitrozirajućih dušikovih skupina u djelatnim tvarima ili njihovim onečišćenjima/razgradnim produktima s **nitrozirajućim agensima prisutnim u komponentama gotovog lijeka** tijekom formulacije ili skladištenja. Poseban rizik od stvaranja nitrozamina treba uočiti kod djelatnih tvari koje sadrže funkcionalnu skupinu nitrozabilnih amina. Prijavljeno je nekoliko primjera gdje se pokazalo da je aminska funkcionalnost osjetljiva na nitrozaciju i stvaranje odgovarajuće N nitrozo onečišćenja (tj. NO-API). Čini se da su sekundarni amini posebno osjetljivi na ovu reakciju, iako su također primijećeni neki slučajevi s tercijarnim aminima. Osjetljivi amini također mogu nastati razgradnjom (npr. hidrolizom) tijekom formulacije ili skladištenja. Nitriti su identificirani kao onečišćenja u mnogim uobičajenim pomoćnim tvarima. Nositelji odobrenja i/ili podnositelji zahtjeva trebaju biti svjesni da se N-nitrozo onečišćenja djelatne tvari mogu formirati u razinama koje prelaze prihvatljiv unos čak i ako su razine nitrita u pomoćnim tvarima vrlo niske. Ukupni sadržaj nitrita također ovisi o relativnom sastavu u smislu pomoćnih tvari.

Budući da je objavljeno da se N-nitrozo onečišćenja mogu formirati iz djelatnih tvari ili njihovih onečišćenja/degradanata (koji sadrže aminsku funkcionalnost ili su podložni razgradnji da bi se otkrili amini) tijekom proizvodnje gotovog lijeka, kao i tijekom skladištenja, nositelji odobrenja trebaju uzeti u obzir stabilnost gotovog lijeka i treba osigurati da prihvatljiv unos bilo kojeg N-nitrozaminskog onečišćenja ne bude premašen do kraja roka valjanosti gotovog lijeka.

9. **Procesi razgradnje** aktivnih tvari, uključujući one izazvane inherentnom reaktivnošću (npr. prisutnost nitro-alkila, oksima ili druge funkcionalnosti ili prisutnošću egzogenog nitrozirajućeg sredstva. To bi se potencijalno moglo dogoditi tijekom procesa proizvodnje aktivne tvari i gotovog lijeka ili tijekom skladištenja, a na to bi mogla utjecati kristalna struktura i **uvjeti skladištenja** (temperatura, vlaga itd.).
10. **Oksidacija hidrazina** ili drugih funkcionalnih skupina koje sadrže amin prisutne u aktivnim tvarima ili njihovim onečišćenjima/degradantima (npr. iz hidrazona i hidrazida), bilo u proizvodnim procesima aktivnih tvari ili tijekom skladištenja. Ovaj temeljni uzrok također je

uočen tijekom proizvodnje i skladištenja gotovih lijekova koji sadrže takve funkcionalne skupine. Potencijalni oksidansi uključuju kisik i perokside (uobičajena onečišćenja u nekim ekscipijensima).

11. Korištenje određenih materijala za **pakiranje**. Relevantna kontaminacija nitrozaminom primijećena je u primarnom pakiranju lijekova u blisteru s preklopnom folijom koja sadrži **nitrocelulozu**. Tijekom procesa toplinskog zatvaranja blistera, dušikovi oksidi mogu se toplinski generirati iz nitroceluloze. Pod ovim uvjetima, pokazalo se da se nitrozamini formiraju iz amina niske molekularne težine prisutnih u tiskarskoj tinti ili u gotovom lijeku i da se prenose na lijek i/ili u šupljinu putem isparavanja i kondenzacije.
12. Reakcija ispiranja amina **iz kvaternih amonijevih anionskih izmjenjivačkih smola** (npr. korištenih za korake pročišćavanja) s nitrozirajućim agensima prisutnim u tekućoj fazi. Nedavni primjer ovoga bio je u proizvodnji vode za injekcije gdje je zaostali kloramin korišten za dezinfekciju ulazne vode reagirao s ispiranjem dimetilamina iz anionske izmjenjivačke smole korištene u koraku demineralizacije da bi se formirao NDMA. Osim toga, postupci dezinfekcije kao što su npr. kloriranje, kloro-aminacija i ozonizacija mogu dovesti do značajnog stvaranja N nitrozamina kao nusproizvoda u slučaju da su prisutni osjetljivi amini. S obzirom na izvor kontaminacije, rizik je povezan s koncentracijom reaktivnog(ih) agensa(a), a time i s volumenom vode u ili koja se koristi za razrjeđivanje određenog proizvoda. Isti bi rizici mogli biti povezani s aktivnim tvarima ili gotovim lijekovima proizvedenim korištenjem vode pročišćene sličnim smolama.

### 3.3.3 Povezani s aspektima dobre proizvođačke prakse (GMP)

13. **Unakrsna kontaminacija** zbog različitih procesa koji se sukcesivno odvijaju na istoj proizvodnoj liniji.
14. Prijenos onečišćenja između koraka procesa zbog **pogrešaka operatera** ili nedovoljno detaljnih zapisa o serijama kao što je neadekvatno odvajanje faza tijekom postupaka obrade.
15. Korištenje **kontaminiranih oporabljenih ili recikliranih materijala** (npr. otapala, reagensa i katalizatora) gdje se oporba povjerava trećim stranama koje nisu upoznate sa sadržajem



materijala koje obrađuju. Također treba uzeti u obzir procese uporabe koji se provode u nenamjenskoj opremi [10].

### 3.4 Valsartan i sartani

Prije lipnja 2018. tvari NDMA i NDEA nisu se nalazile među onečišćenjima utvrđenima u lijekovima iz skupine sartana i stoga nisu bile testirane rutinskim ispitivanjima. Sada je poznato da takva onečišćenja mogu nastati tijekom proizvodnje sartana koji imaju posebnu prstenastu strukturu, takozvani tetrazolni prsten, u određenim uvjetima i kada se upotrebljavaju određena otapala, reagensi i ostale sirovine. Osim toga, moguće je da su onečišćenja bila prisutna u nekim sartanima jer su proizvođači u proizvodnom procesu nehotice upotrebljavali kontaminiranu opremu ili reagense.

Ocjenu lijekova koji sadržavaju valsartan pokrenuto je 5. srpnja 2018. na zahtjev Europske komisije u skladu s člankom 31. Direktive 2001/83/EZ. Ocjenjivanje je 20. rujna 2018. prošireno na lijekove koji sadržavaju kandesartan, irbesartan, losartan i olmesartan. Ocjenu je provelo Povjerenstvo za lijekove za humanu uporabu (CHMP) EMA-e, odgovorno za pitanja koja se odnose na lijekove za humanu uporabu. Mišljenje CHMP-a proslijeđeno je Europskoj komisiji, koja je u razdoblju od 2. do 17. travnja 2019. donijela konačne pravno obvezujuće odluke o predmetnim lijekovima koje se primjenjuju u svim državama članicama EU-a.

U velikoj većini lijekova iz skupine sartana onečišćenja nisu pronađena ili su bila prisutna u vrlo niskim razinama. Ocjenjivanjem je procijenjen najveći mogući rizik od raka u slučaju prisutnosti navedenih onečišćenja. Zaključeno je da kad bi 100 000 bolesnika uzimalo najveću dozu valsartana proizvođača Zhejiang Huahai (u kojemu su utvrđene najviše razine onečišćenja) svakodnevno tijekom šest godina, koliko se smatra da je NDMA bila prisutna u ovom valsartanu, tijekom života tih 100 000 bolesnika mogla bi se pojaviti dodatna 22 slučaja raka koje je prouzročila tvar NDMA. Tvar NDEA u tim lijekovima mogla bi prouzročiti osam slučajeva više u 100 000 bolesnika koji svakodnevno tijekom četiri godine uzimaju najveću dozu lijeka (četiri godine se smatra da je NDEA bila prisutna u ovom valsartanu). Procjene su

ekstrapolirane iz ispitivanja provedenih na životinjama i vrlo su niske u usporedbi s rizikom od raka tijekom života u EU-u (u 1 na 2 slučaja) [15].

#### *3.4.1 Znanstveni zaključci s prvog arbitražnog postupka o sartanima (2019):*

Lijekovi koji sadržavaju sartan važni su za liječenje ozbiljnih ili potencijalno ozbiljnih stanja kao što su hipertenzija ili određene bolesti srca ili bubrega. Djelotvornost i sigurnost lijekova koji sadržavaju sartan dobro su poznate u tim indikacijama te se u arbitražnom postupku nisu dovodile u pitanje. Ključno pitanje ovog arbitražnog postupka odnosilo se na otkrivanje kontaminacija N-nitrozamina (osobito tvarima NDMA i/ili NDEA) u sartanima, potencijalni dugoročni rizik za bolesnike koji proizlazi iz tih kontaminacija te mjere za njihovo smanjivanje na najmanju moguću mjeru.

Nitrozamini su kemijski jednostavne molekule koje mogu nastati u fazama farmaceutске proizvodnje u prisutnosti sekundarnih (ili tercijarnih) amina i nitrita, obično u kiselim uvjetima. Međutim, potrebno je navesti da nitrozamini mogu nastati i u brojnim drugim situacijama, uključujući u biološkim procesima. Od nitrozamina NDMA i NDEA dvije su najpoznatije mutagene tvari karcinogenih svojstava.

Čim se doznalo za problem kontaminacije nitrozaminima, nadležna tijela diljem EU-a odmah su poduzela mjere opreza kao što je povlačenje zahvaćenih serija lijekova iz ljekarni. To je prvotno bilo nužno samo u slučaju lijekova koji sadrže djelatnu tvar valsartan koje je proizveo malen broj proizvođača, no poslije i u slučaju nekih drugih sartana s tetrazolnim prstenom.

#### Procjena prekomjernog rizika od nastanka raka

Učinak koji NDMA i NDEA imaju na ljudsko zdravlje trenutačno se samo ekstrapolira iz ispitivanja na životinjama. Međutim, budući da su mehanizmi oštećenja DNA koji su dokumentirani u tim ispitivanjima relevantni i za ljude, a podaci dobiveni in vitro ispitivanjem staničnih linija ljudi nisu značajno različiti od onih dobivenih ispitivanjem staničnih linija

životinja, razumno je pretpostaviti da se učinci zabilježeni u životinja mogu pojaviti i u ljudi nakon izlaganja dostatno velikim količinama tih nitrozamina.

Osim tvari NDMA i NDEA, u nekoliko lijekova koji sadržavaju sartan otkriveni su i drugi N-nitrozamini. Smatra se da se rizici koji proizlaze iz višekratnog izlaganja bolesnika zbrajaju jer se mutagene tvari kancerogenih svojstava trenutačno smatraju kumulativnim toksinima.

U Smjernicama ICH M7(R1) navedena su načela za utvrđivanje graničnih vrijednosti onečišćenja koje su mutagene odnosno reagiraju s DNA. Određivanje prihvatljivog unosa temelji se na ekstrapolaciji rizika od kancerogenosti iz podataka o kancerogenosti u glodavaca kao doze koja rezultira jednim slučajem raka na 100 000 pojedinaca doživotno izloženih onečišćenju. U Smjernicama su N-nitrozamini uvršteni u kohortu spojeva koji izazivaju zabrinutost. Zbog tih je razloga potrebno N-nitrozaminska onečišćenja u farmaceutskim proizvodima, kao što su sartani namijenjeni za dugotrajnu primjenu, smanjiti na najmanju moguću mjeru.

Nije moguća potpuna procjena rizika u bolesnika koji su prethodno bili izloženi NDMA i/ili NDEA onečišćenjima u sartanima, posebno u valsartanu, za koji je utvrđeno da sadrži najveću kontaminaciju nitrozaminom, jer nije poznat stvarni opseg izloženosti bolesnika. Za pojedinačnu procjenu rizika potrebni su podaci o konkretnim lijekovima i serijama lijekova koje upotrebljava svaki pojedinačni pacijent. Stoga se procjena rizika temelji na potencijalnom najgorem scenariju, odnosno djelomično kombiniranoj izloženosti najvišim razinama tvari NDEA tijekom četiri godine (2011. – 2015.) i NDMA tijekom šest godina (2012. – 2018.) koje su zabilježene za sartan, što ima za posljedicu kumulativni teoretski prekomjerni rizik od razvoja raka od 29,5 : 100 000 ili 1 : 3 390 (0,029 %) pri ekstrapolaciji iz dostupnih ispitivanja na štakorima na temelju Smjernica ICH M7(R1). U usporedbi s doživotnim rizikom od razvoja raka u europskoj populaciji od približno 50 %, smatra se da je taj dodatni rizik vrlo nizak.

Razmatranja u pogledu praćenja izloženih bolesnika

Prethodno naveden vrlo mali teoretski rizik mora se odvagnuti u odnosu na rizike povezane s potencijalnim mjerama za praćenje pacijenata kao što su kolonoskopija ili gastroskopija koji mogu premašiti teoretski prekomjerni rizik od razvoja raka. Na primjer, u nedavnom pregledu procijenjen je rizik od perforacije od 4 na 10 000 (interval pouzdanosti od 95 %, 2 – 5) i rizik od velikih krvarenja od 8 na 10 000 (interval pouzdanosti od 95 %, 5 – 14) pri probirnoj kolonoskopiji. Osim toga, utvrđeno je da su starija dob, komorbiditet i primjena antikoagulansa snažno povezani s gastrointestinalnim i negastrointestinalnim komplikacijama. Nadalje, toksičnost tvari NDMA/NDEA za ciljane organe u ljudi još nije dovoljno jasna. Iz tih razloga CHMP nije mogao utvrditi metode probira na rak od kojih bi bolesnici imali koristi.

#### Mjere za ublažavanje rizika

Po potrebi su poduzete odgovarajuće regulatorne mjere (kao što je karantena ili povlačenja serija lijekova). Potrebne su dodatne mjere kako bi se ponovna pojava takve kontaminacije prospektivno smanjila na najmanju moguću mjeru. Na temelju svih dostupnih podataka, CHMP je zatražio sljedeće:

1. Obvezna procjena rizika za proizvodne procese djelatnih tvari lijekova kako bi se procijenio teoretski rizik od nastanka N-nitrozamina i kontaminacije njime.
2. Izmjena proizvodnih procesa gdje je to potrebno kako bi se kontaminacija svela na najmanju moguću mjeru.
3. Provedba kontrolne strategije za otkrivanje i kontrolu N-nitrozaminskih onečišćenja u djelatnim tvarima (ili, ako je opravdano, u međuproizvodu).

Konkretno, CHMP je zaključio da granične vrijednosti tvari NDMA i NDEA trebaju biti što je tehnički moguće niže. U tom pogledu, na temelju dostupnih podataka o analitičkim metodama mogla bi se postići granična vrijednost kvantifikacije od 0,03 ppm za tvari NDMA i NDEA. Smatra se da je ta granična vrijednost dostatno pouzdan i tehnički ostvariv prag za djelatne

tvori. U usporedbi s razinama dnevnog unosa koje su s pomoću nekliničke toksikologije izračunate na temelju Smjernica ICH M7(R1) mogu se dobiti dodatni sigurnosni čimbenici u rasponu od 2,73 – 27,3 za NDMA i 10,0 – 100 za NDEA, na osnovi utvrđivanja 0,03 ppm kao zajedničkog tehničkog ciljnog ograničenja za NDEA i NDMA u djelatnim tvarima sartana s tetrazolnim prstenom. Temeljni je koncept predloženog pristupa održati što nižu razinu N-nitrozaminskih onečišćenja, neovisno o vrsti sartana ili dozi.

Granična vrijednost od 0,03 ppm za tvori NDMA i NDEA bit će provediva nakon prijelaznog razdoblja od dvije godine od obavijesti o odluci Komisije. Tijekom tog vremenskog razdoblja od nositelja odobrenja za stavljanje lijeka u promet i proizvođača zahtijeva se da uvedu relevantne promjene u proizvodne procese djelatnih tvari lijekova i da osmisle odgovarajuće analitičke metode, osiguravajući pritom odgovarajuću opskrbu tržišta tim prijeko potrebnim lijekovima. U skladu s načelima Smjernica ICH M7(R1) i primjenom toksikoloških podataka utvrđene su privremene granične vrijednosti na temelju dnevnih unosa kako bi se ta onečišćenja u međuvremenu održala na prihvatljivoj razini. Te privremene granične vrijednosti temelje se na maksimalnoj dnevnoj dozi odobrenoj u EU-u za svaki od sartana te se stoga međusobno razlikuju, kako je navedeno u tablici navedenoj u nastavku:

**Tablica 1** Privremene granične vrijednosti nitrozamina u sartanima [16]

Djelatna tvar lijeka	Maksimalna dnevna doza (mg)	NDEA Granična vrijednost u aktivnim farmaceutskim sastojcima (ppm)	NDMA Granična vrijednost u aktivnim farmaceutskim sastojcima (ppm)
valsartan	320	0,082	0,300
losartan	150	0,177	0,640
olmesartan	40	0,663	2,400
irbesartan	300	0,088	0,320
kandesartan	32	0,820	3,000

Ako se otkrije da serija djelatne tvari istodobno sadržava tvari NDMA i NDEA, potrebno je odbaciti tu seriju s obzirom na to da bi kombinirana kontaminacija podrazumijevala kombinirani rizik, koji može biti veći od jednog dodatnog slučaja raka na 100 000 osoba.

Iako su mjere usmjerene na tvari NDMA i NDEA, načela koja se primjenjuju u ovom postupku u pogledu toksikološke procjene, kontrolne strategije i promjena proizvodnih procesa djelatnih tvari lijekova potrebno je analogno primijeniti na druge nitrozamine.

Ako se utvrdi postojanje drugih nitrozamina, to odmah treba prijaviti nadležnim tijelima, zajedno s toksikološkom procjenom onečišćenja, kliničkom procjenom za izložene bolesnike, analizom osnovnog uzroka i planom korektivnih mjera (npr. promjene proizvodnog procesa).

Općenito, uzimajući u obzir dostupne podatke procijenjene u ovom postupku, omjer koristi i rizika lijekova koji sadržavaju sartan s tetrazolnim prstenom i dalje je pozitivan, što je podložno uvjetima koji su određeni [16].

#### *3.4.2 Znanstveni zaključci s drugog arbitražnog postupka o sartanima*

Na temelju saznanja o prisutnosti nitrozamina u lijekovima koja su prikupljena od početka arbitražnog postupka za sartane i uzimajući u obzir podatke procijenjene u okviru pregleda u skladu s člankom 5. stavkom 3., a osobito one koji se odnose na metodologiju izračuna graničnih vrijednosti u slučaju (poli)kontaminacije i na potencijalne osnovne uzroke, CHMP smatra da je ishod arbitražnog postupka za sartane potrebno izmijeniti tako da se u obzir uzmu rezultati pregleda u skladu s člankom 5. stavkom 3.

Smatrajući da je slučaj sa sartanima vrlo dobro ispitan te da je ustanovljeno da su glavni i često jedini osnovni uzrok procesi povezani s djelatnom tvari, mišljenje je CHMP-a da nema nekog specifičnog aspekta zbog kojega bi za sartane s tetrazolnim prstenom bila potrebna opća iznimka.

U pregledu u skladu s člankom 5. stavkom 3. CHMP nije podržao pristup prema kojemu se nitrozamine kontrolira analitičkim metodama (tj. da se granična vrijednost aktivnog farmaceutskog sastojka određuje nekom tehničkom metodom) jer se time ne uzimaju u obzir toksikološki podaci, a granične vrijednosti mogu biti različite za različite nitrozamine, što bi nadalje moglo dovesti do različitih stvarnih izloženosti ovisno o dnevnoj dozi lijeka.

Nitrozamine treba redovito kontrolirati i na razini gotovog lijeka jer se pojavilo nekoliko osnovnih uzroka koji su povezani s postupkom proizvodnje gotovih lijekova. Kontrolnu točku za nitrozamine treba odabrati tako da će ona jamčiti da je prisutnost onečišćenja manja od prihvatljive granične koncentracije u gotovom lijeku. Stoga CHMP smatra da su preporuke prihvaćene u pregledu prema članku 5. stavku 3. relevantne i za sartane s tetrazolnim prstenom.

S obzirom na navedeno, CHMP je zaključio da je omjer koristi i rizika za antagoniste receptora angiotenzina II (sartane) koji sadrže tetrazolnu skupinu (kandesartan, irbesartan, losartan, olmesartan, valsartan) povoljan ako se izmijene uvjeti davanja odobrenja za stavljanje lijeka u promet kako je opisano u prethodnom tekstu [17].

Nakon prvog arbitražnog postupka o nitrozaminskim onečišćenjima u sartanima proveden je drugi arbitražni postupak koji je obuhvatio općenito nitrozaminska onečišćenja u lijekovima. Prvotni znanstveni zaključci većinski su se orijentirali na prisutnost nitrozamina u djelatnoj tvari dok je u drugim znanstvenim zaključcima CHMP-a vidokrug proširio i na gotove lijekove. Način određivanja granica postavljenih za sartane izjednačen je s načinom određivanja granica i za druge djelatne tvari.

### *3.4.3 Arbitražni postupci*

Arbitražni postupak (engl. *referral*) je postupak koji se pokreće u svrhu rješavanja pitanja vezanih uz sigurnost ili omjer koristi i rizika za jedan lijek ili skupinu lijekova na razini Europske unije. Arbitražni postupak je zapravo postupak rješavanja neslaganja među državama



članicama glede tih važnih pitanja. U arbitražnom postupku EMA provodi znanstvenu ocjenu i daje preporuku za harmonizaciju unutar EU. Cilj provođenja arbitražnih postupaka je postizanje pravovremenog i harmoniziranog ishoda, koji je primjenjiv i obvezujući u svim državama članicama Europske unije.

Članak 31. Direktive 2001/83/EZ „Union interest referral” odnosi se na probleme u kakvoći sigurnosti ili djelotvornosti lijeka ili skupine lijekova.

### 3.5 Ranitidin

N-nitrosodimetilamin (NDMA), koji je Međunarodna agencija za istraživanje raka (IARC) klasificirala kao "vjerojatno kancerogen za ljude" (Kancerogena klasa 2A), identificiran je u rujnu 2019. u serijama djelatne tvari ranitidina i gotovim lijekovima dostupnim u EU-u u razinama koje su izazvale zabrinutost prema načelima ICH-M7. Znanstvena literatura ukazuje da se NDMA može stvoriti pod određenim uvjetima kada se dimetilamin (DMA) koji se oslobađa iz ranitidina izloži izvoru nitrita (npr. natrijev nitrit). Osim toga, provedene su *in vitro* studije s različitim pH otopinama ranitidina s i bez nitrita kako bi se procijenilo bi li slični pH uvjeti kao *in vivo* doveli do stvaranja NDMA. Iako su korištene razine nitrita bile daleko iznad onih koje su obično prisutne u ljudskom želucu, činilo se da rezultati pokazuju da se NDMA može formirati iz ranitidina pri kiselom pH u prisutnosti nitrita. S obzirom na ove analitičke rezultate, pokazalo se da se NDMA također može formirati iz ranitidina tijekom određenih analitičkih postupaka, posebno onih koji koriste visoke temperature. Na temelju gore navedenog, Europska komisija je 12. rujna 2019. pokrenula arbitražni postupak prema članku 31. Direktive 2001/83/EZ kako bi se procijenio učinak ovih zabrinutosti na omjer koristi i rizika lijekova koji sadrže ranitidin i zatražila od CHMP-a da izda mišljenje o tome treba li relevantna odobrenja za stavljanje u promet zadržati, promijeniti, obustaviti ili opozvati [14].

Ranitidin, koji je bio dostupan u slobodnoj prodaji (OTC, bez recepta) ili lijek na recept, povučen je s hrvatskog tržišta od rujna 2019. (15, 16), kada je započela EMA-ina procjena ranitidina. Ranitidin je prije povlačenja bio među 50 najkorištenijih lijekova u Hrvatskoj, a svoj je vrhunac doživio 2018. godine kada je zauzeo 31. mjesto [7]. Tijekom osamdesetih prodaja Zantac-a, poznatog američkog lijeka koji sadrži ranitidin, premašila je milijardu dolara zarade je Zantac opisan kao „najprodavaniji lijek na recept ikad“ [18].

Ranitidin pripada skupini lijekova poznatih kao H<sub>2</sub> (histamin-2) blokatori, koji djeluju tako da blokiraju histaminske receptore u želucu i smanjuju proizvodnju želučane kiseline. Koristi se za liječenje i prevenciju stanja kao što su žgaravica i čir na želucu. Lijekove koji sadrže ranitidin odobrila su nacionalna tijela i dostupni su u obliku tableta, sirupa i formulacija za injekcije [19].

Unutar EU ranitidin je indiciran za liječenje više indikacija kod odraslih i djece.

**75 mg filmom obložene tablete:**

*Odrasli i djeca starija od 16 godina*

- Liječenje probavnih smetnji i žgaravice

**150/300 mg filmom obložene i šumeće tablete, 150 mg/10 ml sirup**

*Odrasli (18 godina i više)*

- Duodenalni ulkus, benigni želučani ulkus, uključujući onaj povezan s nesteroidnim protuupalnim lijekovima, rekurentni ulkus, postoperativni ulkus, refluksni ezofagitis,
- Zollinger-Ellisonov sindrom, profilaksa rekurentnog krvarenja iz peptičkog ulkusa, premedikacija u anesteziji, profilaksa stresnih ulceracija.
- Ranitidin je također indiciran u onim stanjima kao što su gastritis i duodenitis kada su povezani s hipersekrecijom kiseline.

*Djeca (3 godine do 18 godina)*

- Kratkotrajno liječenje peptičkog ulkusa
- Liječenje gastroezofagealnog refluksa, uključujući refluksni ezofagitis i ublažavanje simptoma kod gastroezofagealne refluksne bolesti

**10 mg/ml, 25 mg/ml otopina za injekciju/infuziju**

*Odrasli (18 godina i više)*

Akutni napadaji i egzacerbacije:

- duodenalni ulkus
- dobroćudni čir na želucu
- rekurentni ulkus
- postoperativni ulkus
- refluksni ezofagitis
- Zollinger-Ellisonov sindrom
- krvarenje iz peptičkog ulkusa
- premedikacija u anesteziji
- profilaksa i liječenje stresnih ulceracija

*Djeca (6 mjeseci do 18 godina)*

- Kratkotrajno liječenje peptičkog ulkusa
- Liječenje gastroezofagealnog refluksa, uključujući refluksni ezofagitis i ublažavanje simptoma kod gastroezofagealne refluksne bolesti

Odobrene formulacije te indikacije ranitidina variraju između zemalja članica Europske unije. Uobičajene doze ranitidina kreću se od 150 mg do 6 g dnevno. Trajanje liječenje je između 8 i 12 tjedana no u slučaju ponavljajućeg duodenalnog ulkusa liječenje može trajati i do 12 mjeseci. Za hipersekretorna stanja terapija može biti i doživotna.

U srpnju 2019. nalazi iz privatnog laboratorija u Sjedinjenim Državama (SAD) pokazali su da ranitidin može generirati NDMA kao produkt razgradnje. U kolovozu 2019. preliminarni

rezultati nasumičnog odabira i testiranja od strane službenih medicinskih kontrolnih laboratorija (OMCL) serija API-ja ranitidina i gotovih lijekova dostupnih u EU pokazali su razine NDMA u rasponu koji je izazvao zabrinutost u skladu s načelima ICH-M7. Osim toga, provedene su in vitro studije s različitim pH otopinama ranitidina s i bez nitrita kako bi se procijenilo bi li slični pH uvjeti kao in vivo uvjeti doveli do stvaranja NDMA. Iako su korištene razine nitrita bile daleko iznad onih koje su obično prisutne u ljudskom želucu, činilo se da rezultati pokazuju da se NDMA može formirati iz ranitidina pri kiselom pH u prisutnosti nitrita. Na temelju analitičkih rezultata dostupnih na početku arbitražnog postupka, pokazalo se da se NDMA također može formirati iz ranitidina tijekom određenih analitičkih postupaka, posebno onih koji koriste visoke temperature.

Sve u svemu, smatralo se mogućim da se NDMA može stvoriti pod određenim uvjetima kada se DMA oslobođen iz ranitidina izloži izvoru nitrita (npr. natrijev nitrit). Europska komisija smatrala je potrebnim procijeniti relevantnost ovih nalaza, potencijalne temeljne uzroke i njihov utjecaj na omjer koristi i rizika lijekova koji sadrže ranitidin. S obzirom na gore navedeno, Europska komisija pokrenula je 12. rujna 2019. arbitražni postupak u skladu s člankom 31. Direktive 2001/83/EZ kako bi procijenila relevantnost ovih nalaza, potencijalne temeljne uzroke i njihov utjecaj na omjer koristi i rizika lijekova proizvode koji sadrže ranitidin i poduzela sve potrebne radnje.

### **Aspekti kakvoće**

#### **Ovjernice o prikladnosti za monografije Europske farmakopeje**

Svih sedam ovjernica o prikladnosti za monografije Europske farmakopeje (engl. *certificate of suitability* - CEP), od 6 nositelja CEP-a, koji su bili valjani na početku arbitražnog postupka, ocijenjeno je i obustavljeno od strane Europskog ravnateljstva za kakvoću lijekova i zdravstvenu skrb (engl. *European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare* -

EDQM). ili ih je nositelj povukao, zbog prisutnosti NDMA u djelatnoj tvari. Kao rezultat toga, trenutno ne postoji važeći CEP za ranitidin. Općenito, sljedeći se zaključci mogu izvući iz informacija koje pruža EDQM: Moguće je proizvesti serije ranitidin hidroklorida (HCl), s razinama NDMA ispod granice od 0,16 ppm (na temelju ranitidin HCl), međutim, povećanje razina NDMA promatra se tijekom vremena. Uvjeti skladištenja (temperatura, vlažnost) utječu na brzinu stvaranja NDMA. Do sada nije identificiran jasan temeljni uzrok i nije jasno koliko dugo serije mogu ostati unutar prihvatljive granice za NDMA. Potrebne su daljnje studije kako bi se dodatno opisao profil razgradnje ranitidina.

## **Rezultati testiranja**

### Djelatna tvar (engl. *active pharmaceutical ingredient* - API)

Nekoliko tvrtki te Američka agencija za hranu i lijekove (engl. *Food and Drug Administration* - FDA), izvijestili su o stvaranju visokih razina NDMA kada je ranitidin izložen visokim temperaturama (>100°C), kao što se događa kada se koristi tijekom analize za NDMA na temelju plinske kromatografije (GC). Stoga se čini da GC-MS metoda, izvorno razvijena za analizu nitrozamina u sartanima, nije prikladna za analizu ranitidina. Analizu sadržaja NDMA u ranitidinu stoga treba provesti analitičkim metodama koje odvajaju ranitidin i NDMA na niskoj temperaturi.

Proizvođači API-ja još nisu definirali temeljne uzroke prisutnosti NDMA u svojim djelatnim tvarima; međutim, identificirani su sljedeći mogući uzroci koji su pod daljnjom istragom:

- potencijalna degradacija API-ja,
- prisutnost NDMA unutar međuproizvoda,
- prisutnost dušikovih oksida unutar propisanih početnih materijala ili njihovih prekursora,
- prisutnost kloramina u pročišćenoj vodi.

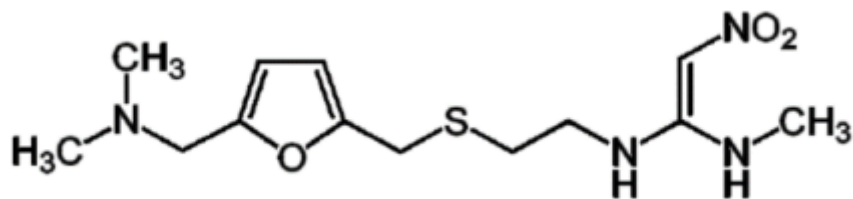
Osim toga, rezultati drugih međunarodnih regulatora u skladu su s rezultatima koje je prijavilo nekoliko nositelja odobrenja da je pri visokoj temperaturi i visokoj vlažnosti razgradnja ranitidina uz stvaranje NDMA značajna.

### Gotov lijek

Mnogi nositelji odobrenja do sada nisu testirali svoje lijekove na prisutnost NDMA i u potpunosti su se oslanjali na testiranje djelatne tvari. Iz rezultata testiranja djelatne tvari poznato je da se koncentracija NDMA može povećati tijekom vremena, vjerojatno zbog nestabilnosti. Za lijekove, ovaj uzlazni trend u količini prisutnog NDMA nije tako jasan kao za djelatnu tvar; međutim, potrebno je više informacija o stvaranju NDMA u gotovim lijekovima. Stoga je od svih nositelja odobrenja tijekom arbitražnog postupka zatraženo da testiraju svoje lijekove na prisutnost NDMA. Strategija uzorkovanja uključuje lijekove različite starosti, tj. svježe pripremljene serije lijeka, serije lijeka na sredini odobrenog roka valjanosti, kao i serije pri kraju odobrenog roka valjanosti, kako bi se pokazalo da se količina NDMA neće povećati tijekom skladištenja lijeka ili da će razina ostati unutar prihvatljivih granica tijekom roka valjanosti lijeka. Gotovo za sve do sada ispitane lijekove, NDMA je identificiran u razinama iznad trenutne granice od 0,16 ppm utvrđene prema načelima ICH-M7 uzimajući u obzir prihvatljivi unos od 96 ng/dan NDMA, maksimalnu dnevnu dozu od 600 mg i doživotno liječenje. Preliminarni rezultati ispitivanja stabilnosti pokazali su da je razina razgradnje u vodenoj fazi (za IV formulaciju) manje izražena nego u čvrstoj fazi (oralna formulacija).

### **Potencijalni mehanizmi**

Nekoliko nositelja odobrenja pretpostavlja da je na temelju dobivenih rezultata za gotove lijekove i djelatne tvari vjerojatno da NDMA nastaje razgradnjom ranitidina (vidi strukturu u nastavku), bez prisustva dodatnog(ih) izvora(a) nitrita.



**Slika 3.** Struktura ranitidina, preuzeto iz literaturne reference 14

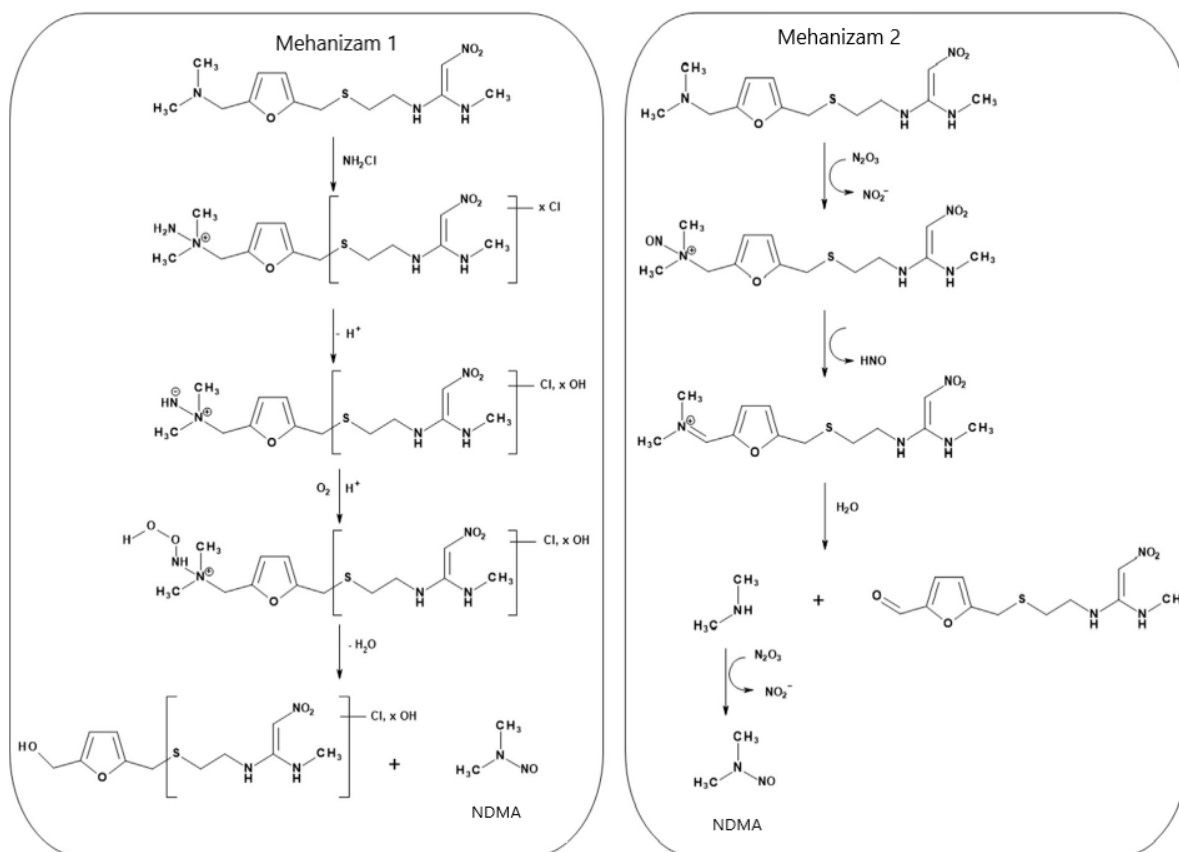
Jedan nositelj odobrenja za promet dao je rezultate ispitivanja s izotopski obilježenom djelatnom tvari koja su provedena kako bi se utvrdio temeljni uzrok prisutnosti niskih razina N-nitrozodimetilamina (NDMA) u ranitidinu i lijekovima s ranitidinom. Jedna je studija imala za cilj utvrditi je li stvaranje NDMA unutar molekularni proces u kojem se reakcija odvija unutar jedne molekule ili međumolekularni proces u kojem su dimetilamino- i nitro skupine izvedene iz odvojene molekule. Dobiveni rezultati pružili su snažne dokaze da je nastajanje intermolekularna reakcija, a ne intramolekularna reakcija i da nije potreban vanjski nitrozirajući agens. Međutim, nije bilo moguće definirati točan mehanizam reakcije razgradnje. Postoje dokazi da se odvijaju dvije neovisne reakcije razgradnje i da bi se nusprodukti tih reakcija mogli spojiti u NDMA, iako mogu postojati i druge mogućnosti.

Nadalje, predloženo je da svojstva krutog stanja utječu na stvaranje NDMA iz djelatne tvari, te stoga mogu utjecati na stabilnost djelatne tvari. Na svojstva čvrstog stanja utjecala je metoda kristalizacije. Budući da djelatna tvar ostaje u krutom stanju u tabletama, može se očekivati povećanje NDMA. Za lijekove u obliku otopina i sirupa u kojima je djelatna tvar otopljena, moguće je da se gore opisani put razgradnje ne dogodi. Pregled podataka o testiranju nadalje je pokazao da je u većini primjera gdje je sadržaj NDMA djelatne tvari i lijeka izmjeren unutar istog razdoblja, količina u lijeku općenito niža nego u odgovarajućem API-ju. Ovo ukazuje na to da je stopa povećanja u gotovom lijeku sporija nego u API-ju, ali to još uvijek nije eksperimentalno potvrđeno ni za jednu specifičnu formulaciju. Konačno, iz eksperimenata je zaključeno da je reakcija ranitidina s natrijevim nitritom/dušičastom kiselinom trenutna i nije u



skladu sa sporim stvaranjem NDMA tijekom duljeg razdoblja, kao što je uočeno u svim serijama tijekom studija stabilnosti. Također je zaključeno da NDMA nastaje u djelatnoj tvari ranitidina primarno zahvaljujući unutarnjem mehanizmu razgradnje koji se odvija u krutom stanju. Razgradnja se odvija bez sudjelovanja bilo kakvih stranih onečišćenja. Povišena temperatura i relativna vlažnost doprinose povećanju stope razgradnje.

Za oralne otopine dostupno je vrlo malo podataka za donošenje zaključaka. Treba napomenuti da se čini da je razgradnja ranitidina i stvaranje NDMA u proizvodima lijeka sporija nego u izoliranoj djelatnoj tvari lijeka. Međutim, ovaj se zaključak temelji na ograničenim podacima. Dostupni rezultati testiranja lijeka nisu dostatni za zaključak je li razgradnja ranitidina u lijeku u obliku NDMA opći fenomen ili ovisi o izvoru lijeka i sastavu lijeka. Formiranje NDMA zbog međumolekularne reakcije predloženo je kao potencijalni mehanizam, međutim mogu se pojaviti dvije neovisne reakcije razgradnje, a produkti iz tih reakcija mogu se kombinirati u NDMA, iako mogu postojati i druge mogućnosti. Do sada nije dostupno dovoljno podataka o kinetici stvaranja NDMA tijekom vremena u gotovim lijekovima da bi se izveli opći zaključci o opsegu stvaranja NDMA tijekom vremena u ranitidinu i može li se količina NDMA u lijekovima dovoljno kontrolirati tijekom roka valjanosti lijeka. U preglednom članku iz 2021. Aldawsari i suradnici predložili su dva potencijalna mehanizma stvaranja NDMA iz ranitidina, prikazano na slici niže.



**Slika 4.** Potencijalni mehanizmi nastanka NDMA iz ranitidina. Preuzeto i prilagođeno iz reference 18

### Ne-klinički aspekti

Genotoksičnost, Karcinogeni potencijal u studijama s glodavcima i Stvaranje NDMA ili drugih potencijalno mutagenih nitrozo spojeva (zaključak iz tri poglavlja):

#### Zaključak o endogenom stvaranju NDMA iz ranitidina:

Iz literaturnih podataka jasno je da su sveukupni učinci liječenja ranitidinom na stvaranje nitrozamina in vivo ili in vitro više puta ispitivani, primarno usredotočujući se na stvaranje nitrozamina u želucu. Međutim, mnoga istraživanja imaju ograničenja i ne mogu se izvući definitivni zaključci iz ovih podataka budući da su rezultati različiti. Neke studije izvješćuju o povećanom stvaranju nitrozamina u želucu (Matsuda et al. (1990) i Krawczyński et al. (2002)), dok druge nisu pronašle ovaj učinak [Garcia Del Risco (1984), Thomas et al. (1987), Houben

et al. (1996)], a neki prijavljuju povećano izlučivanje u urinu [Krawczyński et al. (2002, Zeng i Mitch (2006)]. Različiti rezultati mogu se objasniti činjenicom da se čini da je stvaranje nitrozamina višefaktorski proces s različitim čimbenicima koji su uključeni kao što su pH želuca i razine nitrata i nitrita u želucu. Nadalje, stvaranje nitrozamina u želucu je prijavljeno ne samo za ranitidin nego i za druge antagoniste H<sub>2</sub>-receptora, što sugerira da bi drugi mehanizmi mogli biti odgovorni [Matsuda et al (1990)].

Malo je informacija o metabolizmu ranitidina putem crijevne flore. DMA se vjerojatno može formirati in vivo metabolizmom putem oksidativne deaminacije. Hoće li to rezultirati povećanjem razine NDMA u mokraći ovisit će o uvjetima u mokraćnom mjehuru. Osim toga, zbog nedostatka dostupnih podataka trenutno nije jasno ima li put primjene utjecaj na endogeno stvaranje NDMA iz ranitidina.

Konačna procjena rizika mogla bi imati koristi od daljnjih in vivo istraživanja na ljudima primjenom označenog ranitidina, gdje se može pratiti put relevantnih atoma dušika. Korištenje stabilnog izotopa <sup>15</sup>N omogućilo bi davanje dovoljnih količina za otkrivanje niskih količina NDMA. Mjerenje [<sup>15</sup>N]-NDMA i [<sup>14</sup>N]-NDMA omogućilo bi razlikovanje NDMA dobivenog iz ranitidina i NDMA koji dolazi iz drugih izvora.

## **Procjena rizika za NDMA**

### Prihvatljiv unos

NDMA je moćan mutageni karcinogen kod brojnih različitih životinjskih vrsta. Na temelju podataka o životinjama (štakori su najosjetljivija vrsta), IARC je NDMA klasificirao kao "vjerojatno kancerogen za ljude" (klasa 2A kancerogen). Ovu klasifikaciju koristi IARC kada postoje "ograničeni dokazi o karcinogenosti kod ljudi i dovoljni dokazi o karcinogenosti kod pokusnih životinja". Drugi dugoročni učinci, kao što je teška hepatotoksičnost, također su primijećeni kod rezus majmuna s ovom klasom nitrozamina.

Iako sam NDMA ne reagira s DNA i potrebna je metabolička aktivacija da bi se formirala DNA reaktivna molekula, u procjeni rizika NDMA se smatra DNA reaktivnim karcinogenom. Paradigma koja se općenito koristi za procjenu rizika takvih spojeva temelji se na pretpostavci da ne postoji biološki prag za DNA reaktivne karcinogene smatra se da svaka razina izloženosti predstavlja rizik, a razina bez rizika ne može se uspostaviti. Ova opća paradigma osporena je na znanstvenim temeljima. Međutim, da bi se odstupilo od ove paradigme i uspostavila razina ispod koje se ne očekuje rizik, bili bi potrebni mehanički podaci i podaci specifični za spoj kako bi se pružio uvjerljiv dokaz za takav prag. Nadalje, potrebno je uzeti u obzir da za NDMA i nitrozamine, općenito, postoji znatna razina pozadinske izloženosti. Do pozadinske izloženosti može doći i iz drugih egzogenih izvora i iz endogenih formacija. Na procjene razina pozadinske izloženosti utječu mnogi čimbenici (npr. čimbenici hrane i načina života), a postoji i velika varijabilnost u procjenama razine endogenog stvaranja NDMA. Unatoč tome, može se očekivati da će dodatna izloženost povećati rizik i treba je uzeti u obzir.

Povećani teoretski životni rizik od raka od 1 dodatnog slučaja na 100 000 liječenih pacijenata, tj. povećani životni rizik od raka od 1:100 000, općenito je prihvaćena razina rizika za mutagena onečišćenja u farmaceutskim proizvodima prema ICH M7(R1) smjernici.

NDMA pripada N-nitrozo spojevima, koji su dio takozvane "kohorte zabrinjavajućih" (engl. „*cohort of concern*“) opisanih u ICH smjernici M7(R1). Za takve spojeve generički prag toksikološkog rizika (engl. *threshold of toxicological concern* - TTC) od 1,5 µg/dan kao prihvatljivi unos (engl. *Acceptable intake* - AI) za mutagena onečišćenja ne smatra se primjenjivim i AI specifičan za spoj treba izvesti iz podataka o karcinogenosti specifičnih spojeva.

Opće prihvaćeni pristup koji preporučuje ICH M7(R1) je korištenje ili središnje toksične doze (engl. *toxic dose* - TD50) tj. doze koja daje 50% incidencije tumora ili statističku donju granicu pouzdanosti referentnih doza (engl. *bench mark dose lower bound confidence limit* BMDL10),

procjena najniže doze za koju je 95% sigurno da će uzrokovati ne više od 10% pojave raka kod glodavaca, kao polazište za izračun prekomjernog rizika od raka. Dobro priznat i prihvaćen izvor za vrijednosti TD50 iz studija raka je Baza podataka o karcinogenima (engl. *Carcinogenic Potency Database - CPDB*).

TD50 naveden u navedenoj bazi podataka za NDMA je 0,096 mg/kg/dan (kod najosjetljivije vrste, štakora) izračunat kao harmonijska sredina iz svih pozitivnih studija na štakorima. Ekstrapolacija na prekomjernu razinu rizika za rak provodi se linearnom povratnom ekstrapolacijom na dozu koja teoretski uzrokuje rizik od 1:100 000 dijeljenjem TD50 s 50 000 (50% ili  $0,5 \times 100\,000$ ). Za NDMA to se prevodi u dozu od 1,92 ng/kg/dan. Za osobu tjelesne težine od 50 kg to bi rezultiralo razinom AI od 96 ng/dan ( $50 \times 1,92$  ng). 96 ng/dan odgovara 0,16 ppm za bazu ranitidina kada se uzme u obzir izloženost tijekom cijelog života, uz dnevnu dozu od 600 mg ranitidina.

### **Klinički aspekti**

Na temelju opsežnog pregleda trenutačno dostupnih epidemioloških i postmarketinških podataka, može se zaključiti da nema dokaza o uzročnoj povezanosti između terapije ranitidinom i razvoja raka u bolesnika. Međutim, svaki potencijalni rizik od raka zbog izloženosti NDMA povezan s upotrebom ranitidina niske je razine i vjerojatno se neće otkriti konvencionalnim studijama na životinjama, postmarketinškim izvješćima ili epidemiološkim studijama. Bez obzira na gore navedeno, jasno je da temeljna bolest povećava rizik od karcinoma želuca i gušterače u pacijenata liječenih antagonistima H<sub>2</sub>-receptora (to je također primijećeno kod pacijenata liječenih inhibitorima protonske pumpe (engl. *proton pump inhibitors - PPI*)).

(Teoretski) povećani rizik od raka tijekom života koji je uveo NDMA mogao bi se ekstrapolirati iz ranije spomenute studije karcinogenosti štakora (Peto et al 1991.). Međutim, rizik kod ljudi

može se ispravno procijeniti samo ako je poznata izloženost NDMA povezana s ranitidinom. Egzogeni doprinos uporabe ranitidina može se odrediti mjerenjem koncentracije NDMA u lijeku. Za potencijalno endogeno stvaranje NDMA bili bi potrebni dodatni in vivo podaci kod ljudi, budući da dostupni podaci nisu uvjerljivi. Podaci su pokazali da se nakon IV primjene 150 mg 3H-ranitidina 93% izlučilo u urinu, od čega je 70% bio nepromijenjeni izvorni lijek (tj. nemetaboliziran). To je u suprotnosti s razinom izlučivanja u urinu nakon oralne primjene 150 mg 3H-ranitidina, od čega je 70% bilo 35% nepromijenjenog lijeka. Tvrdilo se da bi potencijal za in vivo stvaranje nitrozamina mogao biti manje zabrinjavajući s obzirom na nižu razinu metabolizacije (ovaj način primjene možda neće izložiti pacijente stvaranju NDMA iz ranitidina zbog želučanih tekućina ili gastrointestinalne mikroflore).

Uočene razlike između oralne i parenteralne primjene mogu odražavati metabolizam prvog prolaza i/ili metabolizam crijevne flore. Iako je količina metaboliziranog ranitidina manja nakon parenteralne primjene, još uvijek je neizvjesno hoće li iz ranitidina nastati manje NDMA (ako doista dođe do endogenog stvaranja). To bi ovisilo o mjestu nastanka. Ako je potencijalno mjesto stvaranja gastrointestinalni trakt, onda bi zabrinutost doista bila mnogo manja nakon parenteralne primjene. Međutim, ako je NDMA proizvod bubrežnog metabolizma, to vjerojatno nije slučaj, a uzimajući u obzir veću stopu bubrežnog izlučivanja nakon parenteralne primjene, količina stvorenog NDMA mogla bi čak biti i veća.

CHMP je također smatrao da pristup „kraći od životnog vijeka” (less-than-lifetime - LTL) za proizvode koji sadrže ranitidin ne bi opravdao postavljanje viših granica s obzirom na rizike od NDMA i benefite ranitidina, ali također da bi se uporaba mogla ponavljati ili biti kronična.

Nositelji odobrenja tvrde da se otopine za injekciju/infuziju koriste samo ograničeno vrijeme (manje od 1 godine) i da je maksimalna dnevna doza za parenteralne oblike niža nego za tablete (predlaže se maksimalna dnevna doza (MDD) od 350 mg na temelju prosječnoj tjelesne težine od 50 kg), te da bi se stoga mogla razmotriti viša granica za sadržaj NDMA (3,65 ppm), pa bi

svi parenteralni proizvodi, za koje su dostavljeni podaci, bili u skladu s tom granicom od 3 ppm (najviša promatrana razina).

Usprkos tome, CHMP se nije složio da se LTL pristup može primijeniti ni na parenteralne proizvode ranitidina iz gore navedenih razloga. Najveća dnevna doza je međutim niža u parenteralnim oblicima u usporedbi s oralnim oblicima doziranja, što može dovesti do veće granice (u smislu ppm po količini djelatne tvari) primjenjive za parenteralne oblike.

### **Omjer koristi i rizika**

NDMA je jaki mutageni karcinogen kod brojnih različitih životinjskih vrsta, a na temelju podataka o životinjama, Međunarodna agencija za istraživanje raka (IARC) klasificirala je NDMA kao "vjerojatno kancerogen za ljude". Unatoč činjenici da je utjecaj NDMA na ljudsko zdravlje trenutačno samo ekstrapoliran iz studija na životinjama, razumno je pretpostaviti da se učinci uočeni kod životinja mogu pojaviti i kod ljudi.

Gotovo sve serije ranitidinskog API-ja i lijekova koji su testirani na NDMA sadrže NDMA iznad 0,16 ppm, što se temelji na prihvatljivom unosu od 96 ng/dan tijekom cijelog života i maksimalnoj dnevnoj dozi ranitidina od 600 mg tijekom cijelog života. Potrebne informacije o prisutnosti NDMA u konačnom proizvodu, uključujući stvaranje NDMA kao produkta razgradnje i/ili metabolita, još uvijek nedostaju. Rizik od kontaminacije s potencijalno kancerogenim nitrozaminima, posebice s NDMA, iznad prihvatljivog dnevnog unosa, nije riješen.

Na temelju pregleda svih dostupnih podataka o sigurnosti i učinkovitosti, CHMP smatra da se rizik od prisutnosti NDMA ne može adekvatno riješiti u ovoj fazi, te je stoga izbjegavanje uporabe proizvoda koji sadrže ranitidin dok se gore navedene nejasnoće ne riješe jedina prihvatljiva mjera minimizacije rizika. CHMP je zaključio da je omjer koristi i rizika lijekova koji sadrže ranitidin negativan s obzirom na nejasnoće o temeljnim uzrocima prisutnosti NDMA

u djelatnoj tvari i proizvodima lijeka te s obzirom na činjenicu da se rizik od endogenog stvaranja NDMA nakon primjene ranitidina u bolesnika ne može isključiti u ovoj fazi.

Treba odgovoriti na pitanja koja se odnose na stvaranje NDMA kao produkta razgradnje i/ili metabolita i potencijal za endogeno stvaranje. Kao posljedica toga, CHMP je preporučio suspenziju svih odobrenja za stavljanje u promet lijekova koji sadrže ranitidin, uzevši pritom u obzir da su dostupne alternative za liječenje ranitidina.

Za ukidanje suspenzije odobrenja za stavljanje u promet (MA) moraju biti ispunjeni svi sljedeći uvjeti:

- nositelji odobrenja moraju istražiti potencijalnu endogenu formaciju i dokazati da ona podržava pozitivan omjer koristi i rizika,
- uvesti u dosje MA odgovarajuće granice za kontrolu prisutnosti nitrozamina i
- uspostaviti strategiju kontrole.
- Ograničenje pri puštanju morat će se temeljiti na maksimalnoj dnevnoj dozi slobodne baze ranitidina uzimajući u obzir način primjene u skladu sa smjernicama ICH M7(R1), s maksimalnim dnevnim unosom NDMA od 96 ng/dan. Ova granica pri puštanju u promet treba uzeti u obzir svako povećanje razine NDMA primijećeno tijekom studija stabilnosti. Nositelji odobrenja također će morati dostaviti podatke o serijama za lijekove kako bi dokazali da je razgradnja djelatne tvari kontrolirana tijekom roka valjanosti.

Smjernice ICH M7(R1) postavljaju načela za određivanje granica mutagenih/DNA-reaktivnih onečišćenja. N-nitrozamini pripadaju "kohorti zabrinjavajućih" spojeva u ovoj smjernici. Na temelju načela u ICH M7, dnevna izloženost NDMA od 96 ng prethodno je postavljena kao prihvatljivi unos (AI), što je povezano s dodatnim rizikom od tumora od  $10^{-5}$ . Pretpostavljajući



maksimalnu dnevnu dozu od 600 mg tijekom cijelog života (ili više od 10 godina), ova AI dovodi do ograničenja od 0,16 ppm u lijekovima koji sadrže ranitidin.

Ograničenje temeljeno na AI bilo bi toksikološki opravdano budući da povećani rizik od tumora ne bi premašio  $10^{-5}$  (ili 1:100 000 pacijenata). Uzimajući u obzir da je NDMA degradant, niže granice vjerojatno neće biti moguće postići u slučaju ranitidina. Ovo se razlikuje od slučaja sartana gdje bi promjena metoda sinteze mogla dovoljno zaobići stvaranje N-nitrozamina.

Ovo se ograničenje temelji na izloženosti tijekom života. LTL pristup koji bi uključivao korekcijski faktor koji vodi do više granice nije prihvatljiv s obzirom na rizike od NDMA, nejasni profil razgradnje, benefite ranitidina i moguću ponovljenu upotrebu tijekom života ili kronične upotrebe.

Nositelji odobrenja za promet također bi trebali uspostaviti strategiju kontrole koja bi trebala uključivati trenutne i buduće mjere za smanjenje rizika od stvaranja/kontaminacije bilo kojim nitrozaminom (npr. promjena procesa proizvodnje, uvođenje odgovarajućih specifikacija i razvoj odgovarajućih metoda, mjera na prostoru i opremi, kao što su postupci čišćenja, praćenje okoliša) i kontrolu svih budućih promjena koje mogu utjecati na ovaj rizik (npr. promjena dobavljača, promjena procesa proizvođača, promjena pakiranja).

Kao dio strategije kontrole, nositelji odobrenja za promet trebali bi uvesti sve potrebne promjene kako bi kontrolirali rizik od prisutnosti N-nitrozamina i smanjili njihovu prisutnost ispod granice koja se temelji na prihvatljivom unosu što je više moguće [14].

### **Uvjeti za ukidanje obustave odobrenja za stavljanje lijeka(ova) u promet**

Kako bi se ukinula obustava lijekova koji sadrže ranitidin, nadležna se tijela moraju pobrinuti da su nositelj(i) odobrenja za stavljanje lijeka u promet ispunili uvjete u nastavku. Uvjeti za

ukidanje obustave odobrenja za stavljanje lijeka u promet za pripravke **parenteralnog ranitidina** samo za jednokratnu uporabu:

1. kao potporu pozitivnom omjeru koristi i rizika tih lijekova, nositelj odobrenja za stavljanje lijeka u promet treba razmotriti važnost nastanka endogenog NDMA-a na temelju npr. podataka o endogenom nastanku NDMA-a iz ranitidina u ljudi, dodatnih eksperimentalnih podataka (*in vitro/in vivo*) ili podataka iz literature.

2. U specifikaciji kojom se potvrđuje prihvatljivost lijeka za stavljanje na tržište, potrebno je odrediti graničnu vrijednost za NDMA. Ta granična vrijednost treba uzeti u obzir svako povećanje razine NDMA-a uočeno u ispitivanjima stabilnosti. Granična vrijednost na kraju roka valjanosti treba se temeljiti na maksimalnoj dnevnoj dozi slobodne baze ranitidina uzimajući u obzir put primjene u skladu sa Smjernicom ICH M7(R1), s maksimalnim dnevnim unosom NDMA-a od 96 ng na dan.

3. Sukladnost s graničnom vrijednosti za NDMA sve do isteka roka valjanosti lijeka potrebno je dokazati odgovarajućim podacima iz serija lijeka.

4. Nositelj odobrenja za stavljanje lijeka u promet treba provesti strategiju kontrole N-nitrozamina za lijekove koji sadrže ranitidin.

Da bi se ukinula obustava odobrenja za stavljanje lijeka u promet **za sve druge lijekove koji sadrže ranitidin**, nositelj(i) odobrenja moraju dostaviti sljedeće:

1. Nositelj odobrenja za stavljanje lijeka u promet treba dostaviti kvantitativne podatke o endogenom stvaranju NDMA-a u ljudi i dokazati podržavaju li rezultati pozitivan omjer koristi i rizika lijeka.

2. U specifikaciji kojom se potvrđuje prihvatljivost lijeka za stavljanje na tržište, potrebno je odrediti graničnu vrijednost za NDMA. Ta granična vrijednost treba uzeti u obzir svako

povećanje razine NDMA-a uočeno u ispitivanjima stabilnosti. Granična vrijednost na kraju roka valjanosti treba se temeljiti na maksimalnoj dnevnoj dozi slobodne baze ranitidina uzimajući u obzir put primjene u skladu sa Smjernicom ICH M7(R1), s maksimalnim dnevnim unosom NDMA-a od 96 ng na dan.

3. Sukladnost s graničnom vrijednosti za NDMA sve do isteka roka valjanosti lijeka potrebno je dokazati odgovarajućim podacima iz serija lijeka.

4. Nositelj odobrenja za stavljanje lijeka u promet treba provesti strategiju kontrole N-nitrozamina za lijekove koji sadrže ranitidin [20].

**Tablica 2.** Popis ranitidina povučenih iz prometa u Hrvatskoj kao posljedica odluke EC (2020)8429 of 24 Nov 2020 (arbitražnog postupka o nitrozaminskim onečišćenjima u ranitidinu) [21]:

Nositelj odobrenja	Naziv lijeka	INN + jačina	Farmaceutski oblik	Put primjene
Belupo D.D.	Gastrobel	Ranitidin 150 mg tablete	Šumeća tableta	Peroralna primjena
Pliva Hrvatska D.O.O.	Peptoran	ranitidin 75 mg tablete	filmom obložena tableta	Peroralna primjena
Pliva Hrvatska D.O.O.	Peptoran	Ranitidin hidroklorid 150 mg tablete	filmom obložena tableta	Peroralna primjena
Pliva Hrvatska D.O.O.	Peptoran Max	Ranitidin 150 mg tablete	filmom obložena tableta	Peroralna primjena
Sandoz D.O.O.	Ranital	Ranitidin 300 mg tablete	filmom obložena tableta	Peroralna primjena

Sandoz D.O.O.	Ranital S	Ranitidin 150 mg tablete	filmom obložena tableta	Peroralna primjena
Sandoz D.O.O.	Ranitidin Sandoz	Ranitidin 150 mg tablete	filmom obložena tableta	Peroralna primjena
Jadran-Galenski Laboratorij D.D.	Ranix	Ranitidin 150 mg tablete	filmom obložena tableta	Peroralna primjena
Jadran-Galenski Laboratorij D.D.	Ranix	Ranitidin 300 mg tablete	filmom obložena tableta	Peroralna primjena
Farmal D.D.	Rantin	Ranitidin 150 mg tablete	filmom obložena tableta	Peroralna primjena

### 3.6 Metformin

Europska agencija za lijekove (EMA) u prosincu 2019. godine izvijestila je da su u zemljama izvan Europske unije u malom broju lijekova namijenjenih liječenju dijabetesa tipa 2 koji sadrže djelatnu tvar metformin pronađena onečišćenja N-nitrozodimetilaminom (NDMA) u tragovima. Razine NDMA-e u predmetnim lijekovima u zemljama izvan EU-a bile su vrlo niske, odnosno ovo onečišćenje prisutno je u istoj ili nižoj razini u odnosu na uobičajenu izloženost ljudi NDMA-i iz drugih izvora, poput određene hrane i vode za piće.

Po zaprimanju informacija o onečišćenjima u lijekovima izvan EU-a, EMA je zajedno s Hrvatskom agencijom za lijekove i medicinske proizvode (HALMED) i drugim nadležnim tijelima zemalja članica EU-a pokrenula postupak utvrđivanja eventualne prisutnosti predmetnog onečišćenja u lijekovima s djelatnom tvari metformin koji su odobreni u EU-u.

Europska agencija za lijekove bolesnicima u EU-u savjetovala je da nastave s uobičajenom primjenom propisane terapije lijekovima s metforminom u skladu s informacijama navedenima u uputi o lijeku. Također, EMA je upozorila na to da rizici neadekvatnog liječenja dijabetesa daleko nadilaze moguće posljedice izloženosti niskim razinama NDMA-e uočenim u ispitivanjima. Zdravstveni radnici također su upućeni da podsjetite bolesnike na važnost držanja dijabetesa pod kontrolom [22].

Istraživanje Schlingermann i sur. objavljeno 2022. godine izvijestilo je o rezultatima opsežne analize sadržaja NDMA kroz proces proizvodnje djelatnih tvari (API), kao i dva različita procesa proizvodnje lijekova. Ova otkrića su potvrdila da djelatna tvar metformin nije značajan izvor NDMA koji se nalazi u lijekovima s metforminom i da se NDMA stvara u onim koracima proizvodnje lijeka koji uvode toplinu i nitrite. Istraživanje je pokazalo da je smanjenje nitrita iz pomoćnih tvari učinkovito sredstvo za smanjenje NDMA u gotovom lijeku. Ograničavanje zaostalog dimetilamina u API-ju pokazalo se još jednim važnim čimbenikom za kontrolu

NDMA jer dimetilamin dovodi do stvaranja NDMA u lijekovima. Nadalje, analiza povijesnih serija ljekovitih proizvoda pokazala je da se NDMA može povećati tijekom skladištenja, ali dosegnute razine nisu ograničavale rok valjanosti za proizvode koji su bili uključeni u ovo istraživanje.

Također je zaključeno da je nitrocelulozna tinta posebno problematična u kombinaciji s proizvodima s metforminom jer oni sadrže DMA kao nitrozabilnu aminska komponentu pa se NDMA može lako formirati čak i ako sama tinta ne sadrži DMA. Korištenje nitrocelulozne tinte za dobivanje pozadine u punoj boji predstavlja najgori mogući scenarij jer je primijenjena količina nitroceluloze posebno velika [23].

Zmyslowski i sur. koristili su GC-MS/MS metodu s EI ionizacijom za otkrivanje i kvantificiranje N-nitrozodimetilamina (NDMA) i sedam drugih nitrozamina u 105 uzoraka tableta metformina 13 različitih proizvođača. NDMA nije otkriven u djelatnoj tvari; međutim, NDMA je detektiran u 64 (85,3%) odnosno 22 (91,7%) uzorka gotovog lijeka i lijeka s produljenim djelovanjem. Europska agencija za lijekove preporučuje najveću dopuštenu granicu od 0,032 ppm u proizvodima s metforminom. Stoga je utvrđeno da 28 lijekova i 7 lijekova s produljenim oslobađanjem premašuje prihvatljivu granicu dnevnog unosa kontaminacije NDMA [24].

Studija objavljena početkom 2023. godine istraživala je formiranja N-nitrosodimetilamina u tabletama metformin hidroklorida s produljenim otpuštanjem (MET). Podaci su pokazali da bi uvjeti oksidacije pospješili razgradnju API-ja za proizvodnju DMA i NDMA. Korištenje pomoćnih tvari koje sadrže nitrit i nitrat u pripremi MET-a ili pomoćnih tvari koje uvode perokside (kao što je HPMC K100M) u proizvodnom procesu dovelo bi do stvaranja NDMA. Brzina rasta NDMA varirala je s različitim veličinama čestica API-ja i sadržajem vode u procesu proizvodnje. Zaključak je naveo da treba izbjegavati uvođenje okoline visoke temperature, jakih alkalnih tvari i peroksida u procesu proizvodnje i tijekom razdoblja

skladištenja MET-a. Sadržaj vode u formulaciji treba kontrolirati unutar razumnog raspona kako bi se uravnotežile potrebe izvedivosti proizvodnje i kontrole NDMA. Preporučljivo je dodati antioksidans i slabo alkalni pH modifikator (npr. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) u formulaciju MET-a, koji može učinkovito spriječiti porast količine NDMA u procesu stabilnosti [25].

Metformin se naširoko koristi sam ili u kombinaciji s drugim lijekovima za liječenje dijabetesa tipa 2 i obično je prva linija liječenja čiji je mehanizam djelovanja smanjenje proizvodnje glukoze u tijelu i smanjenje apsorpcije glukoze iz crijeva. Metformin se može propisivati kao lijek za održavanje godinama i jedini je oralni lijek odobren za liječenje dijabetesa u djece. Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (engl. *World Health Organisation* - WHO) metformin se smatra esencijalnim lijekom i kao takav, svaka odluka o povlačenju ili sprječavanju puštanja serija zbog problema s kakvoćom mora biti uravnotežena u odnosu na štetne učinke na zdravlje bolesnika s dijabetesom koji ne primaju svoje lijekove. Lijek je dostupan kao otopina ili suspenzija, ali se obično propisuje kao čvrsti oralni oblik doziranja s 250 do 1000 mg metformina u formulaciji s trenutnim ili produljenim oslobađanjem ili kao kombinirani proizvod (tj. koji sadrži drugu fiksnu dozu aktivnog farmaceutskog sastojka (API) uz metformin). Krajem 2019. pojavila su se izvješća o prisutnosti N-nitrosodimetilamina (NDMA) u proizvodima s metforminom.

Do danas, jedini nitrozamin otkriven u proizvodima s metforminom je NDMA. Kao što su primijetili Fritzsche et al. ili Jires et al., dimetilamin (DMA) je poznato onečišćenje povezano s lijekovima koji sadrže metformin, a DMA u prisutnosti nitrita ili organskih peroksida pod određenim uvjetima može dovesti do stvaranja NDMA. Prihvatljivi unos (AI) je količina NDMA po maksimalnoj dnevnoj dozi (MDD) API-ja (npr. 96 ng dnevno/3000 mg metformina IR ili 32 ppb (pg/mg)) koja se smatra prihvatljivom za sigurnost pacijenata. U EU je često odobrena MDD 3000 mg za lijekove s metforminom. Nasuprot tome, u SAD-u proizvod s trenutnim otpuštanjem ima AI od 38 ppb (MDD od 2550 mg API-ja), a produkt s produljenim

otpuštanjem ima AI od 48 ppb (MDD od 2000 mg API-ja). Budući da će količina NDMA povezana s API-jem varirati s oblicima doziranja, ograničenje ppb može se koristiti neovisno o obliku doziranja za izračun potencijalne izloženosti NDMA pacijenta koji uzima različite doze (npr. 1000 mg puta 32 ppb daje 32 ng NDMA u proizvodu s trenutnim otpuštanjem u odnosu na količinu od 96 ng dnevno).

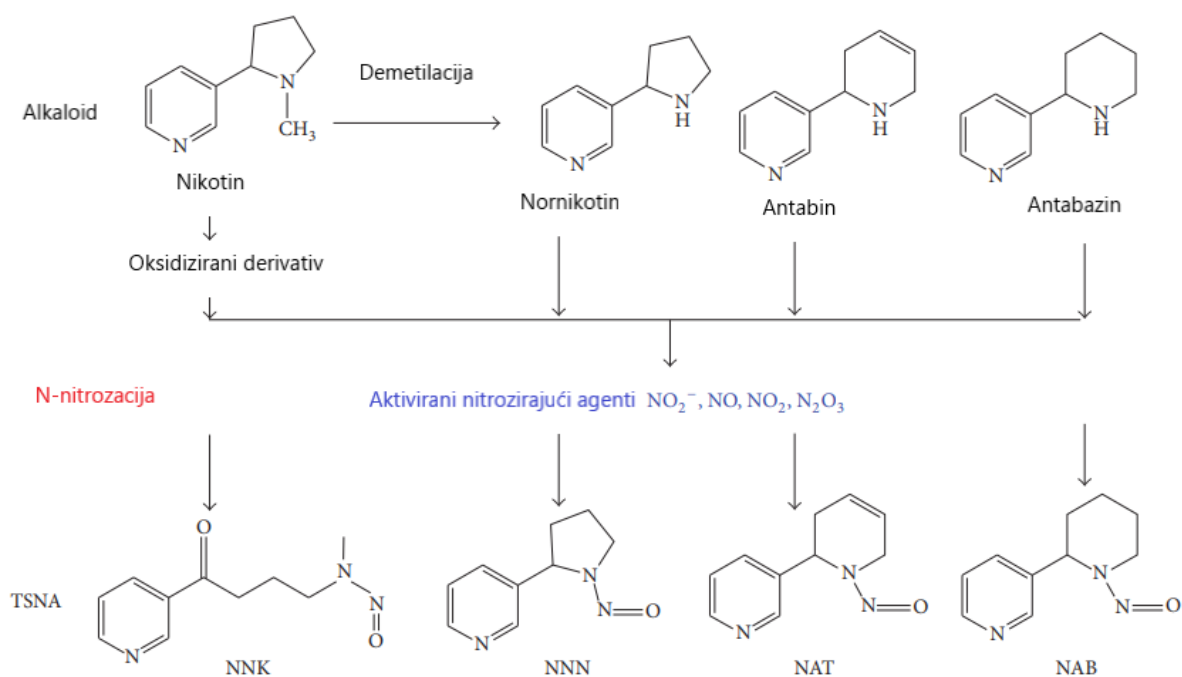
MDD metformina visoka je u usporedbi s MDD većine drugih lijekova i to čini relativnu količinu NDMA (u ppb) u metforminu razmjerno nižom kako bi se zadovoljio prag od 96 ng/dan AI.

Gledajući unaprijed, kako bi se spriječilo da metformin koji sadrži NDMA u količinama većim od AI ne dopiju do pacijenata, većina regulatora je zatražila da se novoproduktne serije lijeka testiraju na NDMA prije nego što se puste na tržište. Osim toga, nastavljaju se istraživanja temeljnih uzroka. Količinu nitrozamina u opskrbi lijekovima treba smanjiti na sigurne količine primjenom većeg znanja o proizvodu i procesu te lekcija naučenih iz niza proizvoda za koje je utvrđeno da sadrže nitrozamine, zajedno s provedbom koraka za ublažavanje u proizvodnim procesima. U konačnici, proizvođači djelatnih tvari i gotovih lijekova odgovorni su za razumijevanje svojih procesa, što uključuje sprječavanje prisutnosti neprihvatljivih onečišćenja [26].



### 3.7 Champix

Dim cigarete složena je mješavina kemikalija, uključujući nekoliko specifičnih duhanskih nitrozamina (engl. *tobacco-specific nitrosamines* - TSNA). Većina TSNA nastaje u duhanu tijekom razdoblja nakon žetve, dok se određeni broj proizvodi tijekom gorenja cigarete. Značajni dokazi podupiru ulogu TSNA kao važnih uzročnih čimbenika za rak pluća, gušterače, jednjaka i usne šupljine kod ljudi koji koriste duhanske proizvode. Od poznatih TSNA, nitrozamin keton (NNK) i N-nitrosornikotin (NNN) najkancerogeniji su od nikotina prema Međunarodnoj agenciji za istraživanje raka (engl. *International Agency for Research on Cancer* - IARC). Ostali TSNA uključuju N'-nitrosoanatabin (NAT) i N'-nitrosoanabazin (NAB) [27].



**Slika 5.** Predloženi putevi stvaranja glavnih TSNA pronađenih u listovima sušenog duhana. Nitrozirajući agensi mogu izravno stupiti u interakciju s nornikotinom, anatabinom i anabazinom kako bi formirali NNN, NAT, odnosno NAB. Nikotin je manje osjetljiv na nitrozaciju; stoga se NNK proizvodi iz pseudoooksinikotina, oksidiranog derivata nikotina. Preuzeto i prilagođeno iz reference 28.

Champix je lijek koji sadrži djelatnu tvar vareniklin. Registriran je centraliziranim postupkom 2006 godine u obliku tableta od 0,5 i 1 mg za indikaciju pomoći kod prestanka pušenja u odraslih.

Nositelj odobrenja Pfizer testirao je serije CHAMPIX proizvoda na prisutnost nitrozo-vareniklin. Rezultati ispitivanja pokazali su da su razine N-nitrozo-vareniklina u određenim serijama premašile razinu prihvatljivog dnevnog unosa. Uslijedilo je povlačenje serija lijekova s tržišta te je distribucija daljnjih serija od lipnja 2021. godine zaustavljena [27]. Pacijentima i zdravstvenim djelatnicima savjetovano je da na započinju nova liječenja s Champixom nego da umjesto toga razmotre alternativne mogućnosti liječenja.

U EU trenutno postoje nestašice lijekova za koje se očekuje da će se nastaviti. Budući da Champix nije kritičan lijek, CHMP je zaključio da njegovo privremeno odsustvo s tržišta EU ne predstavlja zabrinutost za javno zdravlje. Iako se prvotno smatralo da očekivane koristi od CHAMPIX-a, namijenjene za pomoć pacijentima pri prestanku pušenja i uz ograničenu upotrebu od 12 do 24 tjedna, nadmašuju male potencijalne rizike koje predstavlja privremena izloženost N-nitrosovareniklinu iz CHAMPIX-a, CHMP je zaključio da bi nositelj odobrenja za stavljanje lijeka u promet trebao unijeti izmjene u odobrenje za Champix kako bi osigurao da je u skladu s prihvatljivim granicama unosa nitrozamina za lijekove u EU-u, izračunatim u skladu sa smjernicama ICH M7 [29].

### 3.8 Regulatorni odgovor „Call for review“

U rujnu 2019. pokrenut je „call for review“ za lijekove koji sadrže kemijski sintetizirane API-je kako bi se od nositelja odobrenja zatražilo da preispitaju svoje proizvodne procese kako bi identificirali i, ako je potrebno, ublažili rizik od prisutnosti nitrozaminskih onečišćenja. Ova je praksa započela dok je u tijeku bio pregled od strane CHMP-a prema članku 5(3) za nitrozaminska onečišćenja u lijekovima za humanu primjenu.

Po završetku izvješća CHMP-a prema članku 5(3) „call for review“ proširen je i na biološke lijekove. Iako se rizik od nitrozaminskih onečišćenja u biološkim lijekovima smatra vrlo niskim ipak postoje određeni faktori koje treba uzeti u obzir. Ti faktori uključuju biološke pripravke koji sadrže kemijski sintetizirane fragmente, kod kojih su prisutni čimbenici rizika slični kemijski sintetiziranim djelatnim tvarima, zatim biološke lijekove koji koriste procese u kojima se namjerno dodaju nitrozirajući reagensi te biološke lijekove pakirane u određeni primarni materijal za pakiranje, kao što su blister pakiranja koja sadrže nitrocelulozu [9].

Biološki lijek je proizvod čija je djelatna tvar biološka tvar. Biološka tvar je tvar koja je proizvedena ili ekstrahirana iz biološkog izvora, kao što su mikroorganizmi, organi i tkiva biljnog ili životinjskog podrijetla, stanice ili tekućine (uključujući krv ili plazmu) ljudskog ili životinjskog podrijetla, i biotehnološki stanični konstrukti (stanični supstrati, bilo da su rekombinantni ili ne, uključujući primarne stanice) i za koje je potrebna kombinacija fizikalno-kemijskih bioloških ispitivanja i proizvodnog procesa te njegova kontrola za karakterizaciju i određivanje kakvoće. U biološke lijekove spadaju primjerice rekombinantni proteini, monoklonska antitijela, krvni proizvodi, imunološki medicinski proizvodi kao što su serumi i cjepiva, alergeni i proizvodi napredne tehnologije kao što su proizvodi za gensku i staničnu terapiju [30].

Nositelji odobrenja dužni su provesti procjenu rizika prisutnosti nitrozamina u tri uzastopna koraka:

### 3.8.1 Prvi korak - Procjena rizika

Prilikom provođenja evaluacije i procjene rizika, nositelji odobrenja trebaju koristiti pristup temeljen na riziku kako bi odredili prioritarnost lijekova za evaluaciju i potvrdno testiranje. Neki od faktora koje je potrebno uzeti u obzir je maksimalna dnevna doza, dužina trajanja liječenja, terapijska indikacija te broj pacijenata koji koriste tu terapiju. Primjerice lijekovi s višom dnevnom dozom kao i oni koji su namijenjeni za dugoročnu terapiju trebali bi imati prednost.

Nositelji odobrenja/podnositelji zahtjeva u suradnji s proizvođačima lijekova, proizvođačima djelatne tvari i njihovim dobavljačima sirovina dužni su izvršiti procjenu rizika korištenjem načela upravljanja rizicima u kakvoći. Potrebno je razmotriti sve potencijalne izvore kontaminacije ili formacije nitrozamina. Također, potrebno je voditi se smjernicom ICH M7 kao i Izvješćem o procjeni mišljenja CHMP-a prema članku 5(3).

Ako je, nakon provedenog prvog koraka procjene rizika, došlo do identifikacije pojedinog rizika nositelji odobrenja/podnositelji zahtjeva dužni su o tome obavijestiti regulatorna tijela te nastaviti s potvrdnim ispitivanjima (korak 2). U slučaju da rizici povezani s nitrozaminima nisu pronađeni nositelji odobrenja/podnositelji zahtjeva također su dužni o tome obavijestiti nadležna regulatorna tijela.

### 3.8.2 Drugi korak - Potvrdno ispitivanje

U svrhu potvrdnog testiranja kao dijela 2. koraka, testiranje treba provesti na gotovom lijeku. Također se preporučuje testiranje API-ja, njegovih međuproizvoda, početnih materijala, otapala, reagensa, pomoćnih tvari ili bilo kojih drugih sirovina na nitrozamine, amine, nitrite ili druge spojeve koji mogu stvarati nitrozamine, ako procjena rizika ukazuje da su potencijalni

izvor onečišćenja nitrozamina u gotovom lijeku. U takvim slučajevima, rezultati testiranja djelatne tvari, međuproizvoda ili drugih relevantnih materijala mogu se koristiti za potporu istraživanju uzroka i razvoju opravdane strategije kontrole za nitrozaminska onečišćenja.

Međutim, neki temeljni uzroci mogu biti povezani samo s proizvodnim procesom djelatne tvari. U tim slučajevima, ispitivanje djelatne tvari ili međuproizvoda djelatne tvari može se koristiti kao surogat za ispitivanje gotovog lijeka, pod uvjetom da je procjena rizika provedena na gotovom lijeku zaključila da nema dodatnih čimbenika rizika za stvaranje onečišćenja nitrozamina u lijeku. Ako se testiranje provodi na intermedijeru, tada također ne bi trebali postojati čimbenici rizika povezani s kasnijim koracima u procesu proizvodnje djelatne tvari ili gotovog lijeka.

Strategija potvrdnog ispitivanja odgovornost je nositelja odobrenja i trebala bi biti opravdana na temelju procjene rizika za gotov lijek i dokumentirana u farmaceutskom sustavu kakvoće nositelja odobrenja. U svakom slučaju, ako kontrolna točka nitrozamina nije u gotovom lijeku, odgovornost za kakvoću snosi nositelj odobrenja.

Broj serija koje treba testirati treba biti razmjerni riziku. Nositelji odobrenja i proizvođači trebali bi testirati reprezentativan broj serija gotovog lijeka i relevantnog međuproizvoda, djelatne tvari ili početne sirovine prema potrebi. Ako je izvor rizika identificiran i dobro shvaćen (npr. studijama povećanja i pročišćavanja) tako da se očekuje da će razine onečišćenja biti dosljedne od serije do serije, testiranje treba provesti na 10% godišnjih serija, ili 3 godišnje, koje god bilo više. Ako se godišnje proizvede manje od 3 serije, potrebno je ispitati sve serije.

Ako se koristi više proizvođača, proizvodnih procesa i/ili izvora rizičnih sirovina, tada bi bilo potrebno testiranje dodatnih serija kako bi se pokrili ti čimbenici rizika.

Ako je proizvod dostupan u višestrukim jačinama istog oblika doziranja s istim čimbenicima rizika primjenjivim na svaku od njih, tada bi se testiranje moglo racionalizirati ispitivanjem

samo jačine „najgoreg scenarija“. Nositelj odobrenja treba opravdati pristup u „najgorem slučaju“ a opravdanje treba dokumentirati u procjeni rizika u sustavu farmaceutske kakvoće nositelja odobrenja.

Metode za određivanje različitih nitrozamina u sartanima s tetrazolnim prstenom, metforminu i ranitidinu već su razvili službeni laboratoriji za kontrolu lijekova i dostupne su za referencu na web stranici EDQM-a. Oni mogu poslužiti kao početna točka za razvoj i validaciju analitičkih metoda za testiranje drugih djelatnih tvari/lijekova.

Prije testiranja potrebno je razviti odgovarajuće osjetljive analitičke metode za određivanje specifičnih nitrozamina u drugim lijekovima. Granica kvantifikacije (engl. *limit of quantification* - LoQ) trebala bi biti na ili ispod prihvatljive granice za odgovarajuće onečišćenje nitrozamina. Ako se ista analitička metoda koristi za ispitivanje više nitrozamina, tada se selektivnost metode treba dokazati na LoQ za svaki nitrozamin.

S obzirom na razine nitrozamina u tragovima koje treba izmjeriti, pri razvoju analitičkih metoda treba uzeti u obzir sljedeće tehničke aspekte:

- a) Smetnje uzrokovane prisutnošću tragova nitrozamina u korištenim materijalima za testiranje (npr. voda, izvori u zraku, plastični proizvodi i proizvodi od gume/elastomera);
- b) Kontaminacija tijekom pripreme uzorka (izbjegavanje unakrsne kontaminacije rukavicama, membranama, otapalima itd.) koja može dovesti do lažno pozitivnih rezultata;
- c) In situ stvaranje nitrozamina tijekom analize;
- d) Potrebna je upotreba točnih tehnika mase (MS/MS ili sustavi točne mase visoke rezolucije) kako bi se prevladale smetnje u identifikaciji specifičnog vrha određenog nitrozamina (npr. uočeni su lažni pozitivni rezultati iz DMF-a koji je eluiran s NDMA)

### 3.8.3 Treći korak - Izmjena odobrenja

Ako je u koraku 2 potvrđena prisutnost nitrozamina, nositelji odobrenja trebaju provesti učinkovite mjere za smanjenje rizika podnošenjem izmjene odobrenja za stavljanje lijeka u promet. CHMP i CMDh produžili su rokove za izvršenje koraka 3, a trenutni rokovi su 01.10.2023. za kemijske lijekove i 01.07.2023. za biološke lijekove. Europska regulatorna mreža za lijekove potiče nositelje odobrenja da podnesu zahtjeve za izmjene čim završe svoja ispitivanja, a prije produljenog roka.

Neke od mjera za smanjenje rizika od prisutnosti nitrozamina su:

- a) promjena procesa proizvodnje,
- b) promjena kakvoće početne sirovine/pomoćnih tvari,
- c) uvođenje odgovarajućih specifikacija u početne sirovine/intermedijer, djelatnu tvar, gotov lijek;
- d) promjene dobavljača sirovina/polaznih materijala/pomoćnih tvari;
- e) odvajanje nekih proizvodnih koraka u namjenskoj opremi,
- f) izbjegavanje korištenja recikliranih/oporabljenih materijala;
- g) poboljšanje kakvoće recikliranih/oporabljenih otapala;
- h) promjena sustava/materijala pakiranja;
- i) promjena uvjeta skladištenja djelatne tvari/gotovog lijeka [9].

### Homeopatski lijekovi i tradicionalni biljni lijekovi

Ishod čl. 5. stavak 3., tj. načela za procjenu rizika, ograničenja, temeljne uzroke itd. primjenjuju se na sve odobrene lijekove i zahtjeve za novim odobrenjima za stavljanje u promet u EU. Međutim, poziv na reviziju trenutačno ne uključuje homeopatske lijekove, no oni bi se mogli razmotriti kasnije, ovisno o stečenom iskustvu.

Budući da su do sada dostupni vrlo ograničeni podaci, nema dokaza da su biljni medicinski proizvodi kontaminirani nitrozaminskim onečišćenjima. Ipak, potrebna je procjena rizika za

nova odobrenja/registracije za (tradicionalne) biljne lijekove kako bi se spriječila i ublažila prisutnost nitrozamina. Podnositelji zahtjeva trebaju kritički procijeniti moguće razloge prisutnosti nitrozamina u biljnoj tvari/pripravku uzimajući u obzir dostupne dokaze u znanstvenoj literaturi. Procjena rizika također treba obuhvatiti sve daljnje aspekte, posebno uzimajući u obzir sve reagense, pomoćne tvari i materijale za pakiranje koji se koriste u proizvodnji i skladištenju ljekovitih tvari i gotovih biljnih lijekova. Podnositelji zahtjeva trebaju dostaviti zaključke procjene rizika uz prijavni dosje (npr. u 3.2.P.5.5). Ako se utvrdi rizik, potrebno je potvrdno testiranje kako bi se potvrdila ili opovrgla prisutnost nitrozamina. Po potrebi treba predložiti mjere za smanjenje rizika.

Već odobreni/registirani (tradicionalni) biljni lijekovi trenutno nisu obuhvaćeni s „call for review“, no ako nositelj odobrenja posumnja na rizik od kontaminacije, to treba istražiti te u slučaju da se otkriju nitrozamini, prijaviti relevantnim nadležnim tijelima zajedno s prijedlogom mjera za smanjenje rizika prema potrebi [31].



### 3.9 Analitičke metode detekcije nitrozamina

Od spoznaje o kancerogenom potencijalu N-nitrozamina, razvijene su mnoge metode detekcije u području analize hrane, kozmetike, gume, farmaceutske/toksikološke analize i analize okoliša.

Dok su prve korištene analitičke metode bile polarografija, spektrofotometrija i tankoslojna kromatografija (engl. *Thin Layer Chromatography* - TLC), plinska kromatografija (engl. *Gas Chromatography* - GC) s posebnim kemiluminiscencijskim detektorom analiza onečišćenja u tragovima (engl. *Trace Elemental Analysis* - TEA)) bila je uobičajeno korištena oko tri desetljeća. Ovaj detektor katalitički pirolizira N-nitrozamine prethodno odvojene pomoću GC. N-NO veza se cijepa oslobađajući nitrozilni radikal  $\text{NO}\cdot$  koji se odvaja od organskih fragmenata i drugih plinovitih proizvoda tipično hladnim zamkama. Nitrozilni radikal se zatim oksidira s ozonom što dovodi do elektronički pobuđenog dušikovog dioksida ( $\text{NO}_2^*$ ) koji se raspada natrag u osnovno stanje emitirajući karakterističnu valnu duljinu u bliskom IR (NIR). TEA je visoko selektivan i osjetljiv sve do raspona pikomola. Međutim, organski nitriti, N-nitramini, C-nitrozo, nitrati i anorganski nitriti također mogu reagirati. Stoga je potrebna naknadna potvrda kako bi se isključili lažno pozitivni rezultati.

Korištenje maseno-selektivne (masene spektrometrije, MS) detekcije u kombinaciji s GC ili tekućinskom kromatografijom (ultra) visoke učinkovitosti ((U)HPLC) omogućuje detekciju specifičnu za analite na temelju vremena zadržavanja i strukturno specifičnih podataka o fragmentaciji u kombinaciji s visokom osjetljivošću. Stoga se GC-MS, GC-MS/MS i LC-MS/MS danas obično koriste za analizu nitrozamina u svim vrstama materijala.

Ipak, nedavna publikacija Kodamantani et al (2018) opisuje posebnu verziju TEA detektora u sustavu tekuće kromatografije (engl. *Liquid Chromatography* - LC) s postkolonskim modulom anionske izmjene praćen fotokemijskim reaktorom i kemiluminiscentnom detekcijom (HPLC-

AEM-PR-CL) za analizu otpadnih voda u potrazi za nitrozaminima. Bez ikakve predkoncentracije postignut je LOQ od oko 1 ng/L (ovisno o konkretnom analitu) korištenjem volumena uzorka od 200  $\mu$ L (tj. oko 0,2 pg apsolutno). Modul anionske izmjene korišten je za generiranje hidroksidnih iona za fotokemijski reaktor iz aniona prisutnih u eluatu.

Odabrana metoda mora jamčiti nedvosmisleno određivanje N-nitrozamina u skladu sa znanstveno priznatim smjernicama. Zbog njihovih fizikalno-kemijskih svojstava i, u nekim slučajevima, niske molekularne težine, potrebna je temeljito provedena metoda procjene kako bi se N-nitrozamin razlikovao od drugih spojeva. S obzirom na specifičnost i selektivnost metode, kriterije identifikacije treba prikupiti tijekom postupka određivanja kako bi se potvrdila prisutnost nitrozamina.

Objavljeni pregledni članci o nedavno implementiranim analitičkim postupcima za N-nitrozamin posebno naglašavaju prednosti kombiniranja kromatografskog odvajanja s visokoosjetljivim metodama detekcije za određivanje N-nitrozamina u tragovima. Njihov karakter hlapljivih ili nehlapljivih molekula čini N-nitrozamine više ili manje prikladnima za različite kromatografske tehnike (LC, GC). Glavni kandidati od interesa, naime N-nitrozodimetilamin (NDMA) i N-nitrozodietilamin (NDEA), sa svojim hlapljivim svojstvima, mogu se dobro odvojiti od sličnih molekula pod uvjetima plinske kromatografije ili tekućinske kromatografije. Potonji također proširuje raspon analita uključivanjem nehlapljivog ili termički nestabilnog N-nitrozamina (npr. N-nitrozodifenilamina), koji se može mjeriti GC samo nakon dugotrajnih koraka derivatizacije. Osim toga, svi pregledni članci navode odgovarajuće korake prethodnog pročišćavanja i obogaćivanja N-nitrozamina iz odgovarajućih matrica, npr. hrane, vode, ljekovitih tvari itd., kako bi se smanjila složenost spojeva prije analize. Nedavno je objavljen pregled koji sažima analitičke metode korištene za određivanje N-nitrozamina u lijekovima, a informacije iz članka mogu se prikupiti kao podrška smjernicama o analitičkim aspektima.

Prilično novi pristup objavljen je u svibnju 2019. koji opisuje istovremeno određivanje srodnih tvari i N-nitrozamina u valsartanu i losartanu u jednom kromatografskom ciklusu samo uporabom superkritične fluidne kromatografije (SFC) s modifikatorom (metanol i mravlja kiselina), u kombinaciji s UV i MS detekcijom ionizacijom u elektrospreju (ESI). Ovo može imati neke prednosti za rutinsku kontrolu N-nitrozamina [9].

Privatni laboratorij za testiranje izvijestio je FDA-i da je 16 od 38 metforminskih lijekova koje su testirali količine N-nitrozodimetil amina (NDMA) iznad dopuštenog unosa (AI) od 96 ng/dan. Budući da je FDA pratila lijekove za nitrozamine, ortogonalni analitički postupci razvijeni su, potvrđeni i primijenjeni za otkrivanje sljedećih nitrozamina u metforminskim lijekovima (ako su prisutni): (i) NDMA (s posebnom metodom) ili (ii) NDMA (s drugom potvrdnom metodom), N-nitrozo-dietilamin (NDEA), N-etil-N-nitrozo-2-propanamin (NEIPA), N-nitrozo-diizopropilamin (NDIPA), N-nitrozo-di-n-propilamin (NDPA), N-nitrozo-metilfenilamin (NMPA), N-nitrozo-di-n-butilamin (NDBA) i N-nitrozo-N-metil-4-aminomaslačna kiselina (NMBA). Za razliku od rezultata privatnih laboratorija, FDA testiranje na istom skupu od 38 uzoraka s ortogonalnim postupcima uočilo je količine iznad AI u samo 8 od 38 proizvoda i općenito su primijećene niže vrijednosti od onih koje je prijavio privatni ispitni laboratorij.

Istraživanje uzroka odstupanja otkrilo je da N,N-dimetilformamid (DMF) može ometati NDMA mjerenja. Podaci su pokazali da je upotreba dovoljne točnosti mase u prikupljanju podataka i odgovarajuće postavke tolerancije mase u obradi podataka kako bi se osigurala selektivnost mjerenja masene spektrometrije NDMA u prisutnosti koeluirajućeg DMF-a bila neophodna kako bi se spriječilo precjenjivanje razine NDMA u proizvodima s metforminom. Općenito, potrebno je voditi računa o osiguravanju potrebne specifičnosti u analitičkim postupcima za odgovarajuću procjenu razine nitrozamina u lijekovima koji također sadrže DMF ili druge potencijalno interferirajuće tvari [32].

### 3.10 Propisani limiti nitrozamina u lijekovima

U veljači 2021. osnovana je Grupa za nadzor nitrozamina (engl. *Nitrosamine Implementation Oversight Group* - NIOG) čija je primarna je odgovornost nadgledanje provedbe mišljenja CHMP-a iz članka 5. stavka 3. u vezi s nitrozaminskim onečišćenjima u lijekovima za humanu primjenu te pružanje ažuriranih informacija o napretku tijelima Europske regulatorne mreže za lijekove.

Postojeće farmaceutske smjernice [ICH M7 (R1)] pokrivaju mutagene karcinogene i primjenjuju pristup praga toksikološkog rizika (TTC) uz definiranje zanemarive razine rizika (teorijski  $10^{-5}$  viška životnog rizika od raka) za određivanje prihvatljivog unosa (engl. *acceptable intake* - AI) za bilo koju mutagenu tvar. Metode na kojima se temelji TTC općenito se smatraju vrlo konzervativnima budući da uključuju jednostavnu linearnu ekstrapolaciju od doze koja daje 50% incidencije tumora (TD50) do  $10^{-5}$  incidencije, korištenjem podataka TD50 za najosjetljivije vrste i najosjetljivije mjesto indukcije tumora. Za većinu mutagenih kemikalija, generički TTC od 1,5  $\mu\text{g}/\text{dan}$  može biti opravdan, međutim isključuje strukturne skupine tako visoke potencije, za koje bi unos čak i ispod TTC-a od 1,5  $\mu\text{g}/\text{dan}$  potencijalno mogao biti povezan s karcinogenim rizikom većim od 1 u 105 slučajeva. Takve se kemikalije nazivaju "kohorta koja izaziva zabrinutost", a nitrozamini pripadaju ovoj skupini. Za nitrozamine, ICH M7(R1) preporučuje izračun AI specifičnog za tvar koristeći TD50 ili referentnu granicu doze (BMDL10) studija karcinogenosti na životinjama izvedenih sa specifičnim nitrozaminom kao "polazišnim točkama", tj. polaznim točkama za izračune.

Linearna ekstrapolacija rizika od raka sa životinja na ljude pomoću Haberovog zakona konzervativan je pristup s kojim se složilo Povjerenstvo za lijekove za primjenu kod ljudi (CHMP) EMA-e za postavljanje ograničenja za nitrozamine u lijekovima na temelju doživotne izloženosti onečišćenjima. Međutim, ICH M7(R1) također dopušta prilagodbu razina

onečišćenja prema gore u lijekovima namijenjenim za korištenje kraće od životnog vijeka (LTL) na temelju paradigme linearnosti "doza  $\times$  vrijeme = konstanta". Kad bi se ovaj koncept primijenio na nitrozamine, to bi rezultiralo prihvaćanjem mnogo viših razina, posebno u lijekovima koji se koriste samo kratkoročno.

Kada se razmatra kako implementirati preporuke navedene u ICH M7(R1) u slučaju onečišćenja nitrozamina, valjanost paradigme linearnosti doveli su u pitanje stručnjaci konzultirani u sklopu znanstvenog pregleda o nitrozaminima EMA-e na temelju članka 5. stavka 3. najmanje za visoko mutagene i kancerogene nitrozamine. Stoga je CHMP preporučio da se kao mjera predostrožnosti ne prilagođavaju ograničenja za upotrebu LTL-a. Ovo je također uzelo u obzir nesigurnosti oko toga može li kratkotrajni unos visokih razina nitrozamina akutno prevladati kapacitete tijela za popravak DNA. To bi posebno bio slučaj za lijekove koji se koriste kratkoročno, što bi omogućilo mnogo više razine nitrozamina kada se koristi LTL pristup ICH M7 (R1).

Stoga se zadani pristup za izračun granica nitrozamina temelji na AI za životnu izloženost prema načelima ICH M7(R1). Međutim, mogu postojati iznimni slučajevi, kao što su kritični lijekovi s ograničenim terapijskim alternativama koji bi bili u opasnosti od nestašice u slučaju povlačenja ili prekida opskrbe ako se primijeni AI za doživotnu izloženost. U takvim slučajevima, kada se N-nitrozamin ne može zadržati ispod granice AI, nadležna tijela iznimno mogu prihvatiti više granice, ali samo nakon obavljene procjene koristi/rizika, pri čemu se procjena koordinira na razini EU-a putem Znanstvenog Odbora EMA-e za olakšavanje usklađenog pristupa u svim državama članicama.

Kad je riječ o postavljanju granica za nove nitrozamine, ako se oni otkriju, preporuke pružaju fleksibilnost ovisno o vrsti dostupnih podataka. AI se može izvesti ekstrapolacijom iz dostupnih podataka o životinjama. U nedostatku odgovarajućih podataka o životinjama, može se koristiti TTC specifičan za klasu za nitrozamine od 18 ng/dan, na temelju scenarija najgoreg slučaja

koristeći TD50 podatke iz svih nitrozamina u bazi podataka o karcinogenosti Lhase, ili se mogu izvesti izračuni odnosa strukturne aktivnosti koristeći npr. podatke o karcinogenosti iz blisko povezanih struktura. Ograničenje AI će u svakom slučaju zahtijevati procjenu od strane CHMP-a, koji će osigurati usklađene granice na temelju jednog AI za određeni nitrozamin u svim državama članicama EU.

Uz preporuke o postavljanju granica, CHMP je dao smjernice o strategijama za ublažavanje prisutnosti nitrozamina u lijekovima za humanu primjenu. To uključuje pažljivo planiranje proizvodnih procesa kako bi se izbjeglo stvaranje nitrozamina, procjene rizika za procese i sirovine te provedbu odgovarajućih strategija kontrole. Dane su daljnje smjernice o izračunavanju granica kada je prisutno više nitrozamina i o aspektima analitičkih metoda za detekciju i kvantifikaciju nitrozamina u tragovima.

Propisane granice u lijekovima osigurat će da je povećani rizik od nastanka karcinoma zbog mogućeg prisustva nitrozamina u lijekovima iz skupine sartana niži od 1 na 100000 osoba koje koriste ove lijekove u cjeloživotnoj terapiji [1].

**Tablica 3** Propisane granice u slučaju kad lijek sadrži samo jedan nitrozamin

N-nitrozamin	ng/dan	Potencijalan izvor
N-Nitrosodimethylamine, NDMA	96.0	
N-Nitrosodiethylamine, NDEA	26.5	
N-Nitrosoethylisopropylamine, EIPNA	26.5	
N-Nitrosodiisopropylamine, DIPNA	26.5	
N-Nitroso-N-methyl-4-aminobutyric acid, NMBA	96.0	
1-Methyl-4-nitrosopiperazine, MeNP	26.5	rifampicin
N-Nitroso-di-n-butylamine, NDBA	26.5	

N-Nitroso-N-methylaniline, NMPA	34.3	
N-Nitrosomorpholine, NMOR	127	
N-Nitrosovarenicline, NNV	37.0	vereniklin
N-Nitrosodipropylamine, NDPA	26.5	
N-Nitrosomethylphenidate	1300	metilfenidat
N-Nitrosopiperidine	1300	
N-Nitrosorasagiline	18	razagilin
7-Nitroso-3-(trifluoromethyl)-5,6,7,8-tetrahydro[1,2,4]triazolo- [4,3- a]pyrazine	37	sitagliptin
N-Nitroso-1,2,3,6-tetrahydropyridine, NTHP	37	
N-Nitrosonortriptyline	8	amitriptilin, nortriptilin
N-Methyl-N-nitrosophenethylamine, NMPEA	8	
N-Nitrosodabigatran	18	dabigatran
4-(Methylnitrosoamino)-1-(3-pyridinyl)-1-butanone (NNK)	100	
N-nitrosoduloxetine	100	duloksetin
N-nitroso-fluoxetine	100	fluoksetin
N-nitrosoparoxetine	1300	paroksetin
N-nitroso-diphenylamine NDPh	78000	
N-nitroso-mefenamic acid	78000	mefenamična kiselina
N-nitroso-pyrrolidine NPYR	1700	
N-nitroso-diethanolamine NDELA	1900	

### 3.11 Pristup Europske regulatorne mreže za lijekove za provedbu mišljenja CHMP-a u skladu s člankom 5(3) Uredbe (EZ) br. 726/2004 za nitrozaminska onečišćenja u lijekovima za humanu primjenu

#### 3.11.1 Postavljanje ograničenja za N-nitrozamine za lijekove za humanu primjenu

Pregled CHMP-a zaključuje da bi ograničenje temeljeno na načelima ICH M7(R1) za "kohortu zabrinjavajućih" tvari (AI ograničenje koje odgovara teoretskom prekomjernom riziku od raka od <1 u 100 000) uzimajući u obzir dnevnu izloženost tijekom života trebalo izračunati za pojedinačne N -nitrozamine u lijekovima za humanu primjenu. Ograničenja koja je dogovorila Radna skupina za sigurnost (engl. *Safety Working Party* - SWP) za neke specifične N-nitrozamine navedena su u Mišljenju CHMP-a kao referenca.

U slučajevima kada je prisutnost više od jednog N-nitrozamina potvrđena u API-ju i/ili gotovom lijeku (engl. *finished product* – FP), mogu se koristiti dva pristupa za postavljanje ograničenja:

- ukupni dnevni unos svih identificiranih N-nitrozamina ne smije premašiti granicu najpotentnijeg identificiranog N-nitrozamina;
- ukupna razina rizika zbroja svih otkrivenih N-nitrozamina ne bi smjela prijeći 1 u 100 000 doživotnog rizika.

U slučaju da još nije postavljena granica za otkriveni N-nitrozamin (tj. novi N-nitrozamin), treba izračunati TD50 i upotrijebiti ga za određivanje specifične granice za tvar za doživotnu izloženost prema preporuci ICH M7(R1) smjernice. U slučaju nedovoljno robusnih podataka za izvođenje ograničenja:

- kao zadana opcija može se koristiti prag toksikološkog rizika specifičan za klasu (TTC) za N-nitrozamine od 18 ng/dan;



- može se koristiti pristup koji se temelji na razmatranjima odnosa strukture i reaktivnosti (engl. *structure-activity-relationship* - SAR) za izvođenje prihvatljive granice unosa ako je to opravdano.

Za lijekove namijenjene samo za uznapredovali rak kako je definirano u okviru smjernica ICH S9, onečišćenja N-nitrozamina treba kontrolirati prema smjernicama ICH Q3A(R2) i ICH Q3B(R2), kako je navedeno u dokumentu s pitanjima i odgovorima za smjernice ICH S9. Ako je sama djelatna tvar mutagena ili klastogena u terapijskim koncentracijama, onečišćenja N-nitrozamina treba kontrolirati u granicama za nemutagena onečišćenja prema ICH M7(R1).

Iznimno kada se pojedinačni N-nitrozamin ne može držati ispod granice definirane u Mišljenju CHMP-a, članak 5 (3) ili se ukupna razina rizika zbroja više od jednog otkrivenog N-nitrozamina ne može držati ispod 1 u 100 000 doživotnog rizika, prihvatljivost viših granica mogu razmotriti nadležna tijela na temelju procjene koristi i rizika. U takvim slučajevima nadležna tijela (eng. *competent authorities* - CA) mogu razmotriti koncept "kraći od životnog vijeka" (LTL) iz smjernice ICH M7(R1) za raspon privremeno prihvatljive izloženosti dok se ne provedu daljnje mjere za smanjenje onečišćenja na ili ispod razine granica definiranih gore.

### 3.11.2 Opća načela kojih se trebaju pridržavati farmaceutske tvrtke

Kako bi ispunili svoje obveze kako je navedeno u „call for review“ nositeljima odobrenja za stavljanje u promet, podnositelji zahtjeva provode procjenu rizika/procjenu rizika proizvodnih procesa API-ja i FP-a za prisutnost N-nitrozamina kao dio svojih zahtjeva za odobrenje za stavljanje lijeka u promet. Isto tako, nositelji odobrenja moraju poduzeti ovu procjenu rizika/procjenu rizika za odobrene lijekove kao dio gore navedenog „call for review“ nositeljima odobrenja za lijekove za ljude koji sadrže kemijski sintetizirane API-je i lijekove za ljude koji sadrže biološke aktivne tvari.

Kao rezultat „call for review“ nositeljima odobrenja za odobrene lijekove ili za nova odobrenja za odobrenje lijeka, nositelj odobrenja/podnositelj zahtjeva trebao bi odmah obavijestiti ovlaštena tijela ako se identificiraju N-nitrozamini, bez obzira na otkrivenu količinu.

Ako identificirani N-nitrozamin(i) premaši(ju) granicu AI temeljenu na načelima ICH M7, treba podnijeti izvješće o istrazi kao dio odgovora koraka 2, koji će naknadno biti podložno procjeni koristi/rizika od strane nadležnog tijela.

Ubuduće, nositelji odobrenja za promet trebali bi provesti strategiju kontrole u vezi s N-nitrozaminima za svoje djelatne tvari i FP-ove, koja bi trebala uključivati trenutne i buduće mjere za smanjenje rizika od stvaranja/kontaminacije bilo kojim N-nitrozaminom i kontrolirati sve buduće promjene koje bi mogle utjecati na ovaj rizik.

### 3.11.3 Postupak za detekciju N-nitrozamina u lijekovima

Smjernice za izračun granice kada se identificira novi nitrozamin dodatno su objašnjena pitanjima i odgovorima. Ako su N-nitrozamini identificirani bez dovoljno podataka o karcinogenosti za izvođenje granice specifične za tvar za doživotnu izloženost kao što je preporučeno u smjernicama ICH M7(R1), a TTC specifičan za klasu za nitrozamine od 18 ng/dan ne koristi se za kontrolu razina nitrozamina u gotovom proizvodu, AI koji je dogovorila Neklinička radna skupina (NcWP) i usvojio CHMP potreban je za odlučivanje o mogućnostima kontrole nitrozamina u gotovom lijeku.

### 3.11.4 Usklađivanje pristupa i postavke scenarija

Nakon zaključenja arbitražnog postupka, produženi su rokovi za poziv nositeljima odobrenja za pregled lijekova koji sadrže kemijski sintetizirane API-je. Osim toga, opseg poziva proširen je i na lijekove koji sadrže biološke aktivne tvari te su definirani vremenski okviri kako bi se nositeljima odobrenja omogućilo dovoljno vremena za poduzimanje potrebnih naknadnih radnji. „Call for review“ sastoji se od sljedeća 3 koraka s navedenim rokovima:

**Korak 1:** Nositelji odobrenja trebaju izvršiti procjenu rizika kako bi utvrdili mogu li API-ji i/ili FP-ovi biti izloženi riziku od prisutnosti N-nitrozamina u skladu s načelima navedenim u Pitanjima i odgovorima 7 Pitanja i odgovora za provedbu preporuke iz članka 5(3) :

- poduzeti prije **31. ožujka 2021.** za lijekove za ljude koji sadrže kemijski sintetizirane API-je;
- poduzeti prije **1. srpnja 2021.** za humane lijekove koji sadrže biološke djelatne tvari.

**Korak 2:** ako se utvrdi rizik, nositelji odobrenja moraju nastaviti s potvrdnim testiranjem kako bi potvrdili ili opovrgli prisutnost N-nitrozamina, u skladu s načelima navedenim u pitanjima i odgovorima 8 i 9 pitanja i odgovora za provedbu članka 5(3) arbitražnog postupka. Nositelji odobrenja trebaju izvijestiti o rezultatima što je prije moguće.

**Korak 3:** ako se potvrdi prisutnost N-nitrozamina, nositelji odobrenja trebaju provesti učinkovite mjere za smanjenje rizika podnošenjem izmjena odobrenja:

- poduzeti prije **26. rujna 2022.** za lijekove za ljude koji sadrže kemijski sintetizirane API-je;
- poduzeti prije **1. srpnja 2023.** za humane lijekove koji sadrže biološke djelatne tvari.

Nositelji odobrenja moraju dati odgovor regulatornim tijelima o ishodu koraka 1 i koraka 2 korištenjem dogovorenih objavljenih predložaka na web stranicama EMA/CMDh. Europska regulatorna mreža za lijekove se složila da regulatorna tijela (EMA za centralizirano odobrene proizvode (engl. *centrally approved product* - CAP), nacionalna nadležna tijela (NCA) za nacionalno odobrene proizvode (engl. *nationally approved product* - NAP)) trebaju pratiti usklađenost farmaceutskih tvrtki s dogovorenom provedbom mišljenja CHMP-a, što uključuje praćenje podnošenje od strane nositelja odobrenja za svaki korak poziva na pregled kako je gore opisano.

3.11.5 Scenariji kao ishodi procjene rizika od strane nositelja odobrenja:

Kao dio harmoniziranog pristupa identificirana su **četiri scenarija** kao ishod procjene rizika od strane nositelja odobrenja tijekom gore opisanog poziva za pregled nositeljima odobrenja, ovisno o N-nitrozaminu i identificiranim razinama:

#### Scenarij a:

**Poznati** N-nitrozamin otkriven je u medicinskom proizvodu i razina N nitrozamina **premašuje** ograničenje AI na temelju načela ICH M7 (1 u 100 000 doživotnog rizika). Isti se scenarij primjenjuje kada je otkriveno **više od 1 poznatog N-nitrozamina**, a ukupni zbroj N-nitrozamina **premašuje** AI ograničenje najjačeg N-nitrozamina ili zbroj svih otkrivenih N-nitrozamina **prelazi** 1 u 100.000 doživotnog rizika.

#### Scenarij b:

**Poznati** N-nitrozamin otkriven je u lijeku i razina N-nitrozamina ne prelazi granicu AI temeljenu na načelima ICH M7 (1 u 100 000 doživotnog rizika), međutim ukupni sadržaj N-nitrozamina **viši je od 10% granice AI**. Isti se scenarij primjenjuje kada je otkriveno **više od 1 poznatog N-nitrozamina**, a ukupni zbroj N-nitrozamina **ne** prelazi granicu AI najpotentnijeg N-nitrozamina ili je zbroj svih otkrivenih N-nitrozamina **ispod** 1 od 100 000 doživotnog rizika. Scenarij b uključuje situaciju u kojoj je razina N-nitrozamina iznad 10%, ali ispod 30% .

#### Scenarij c:

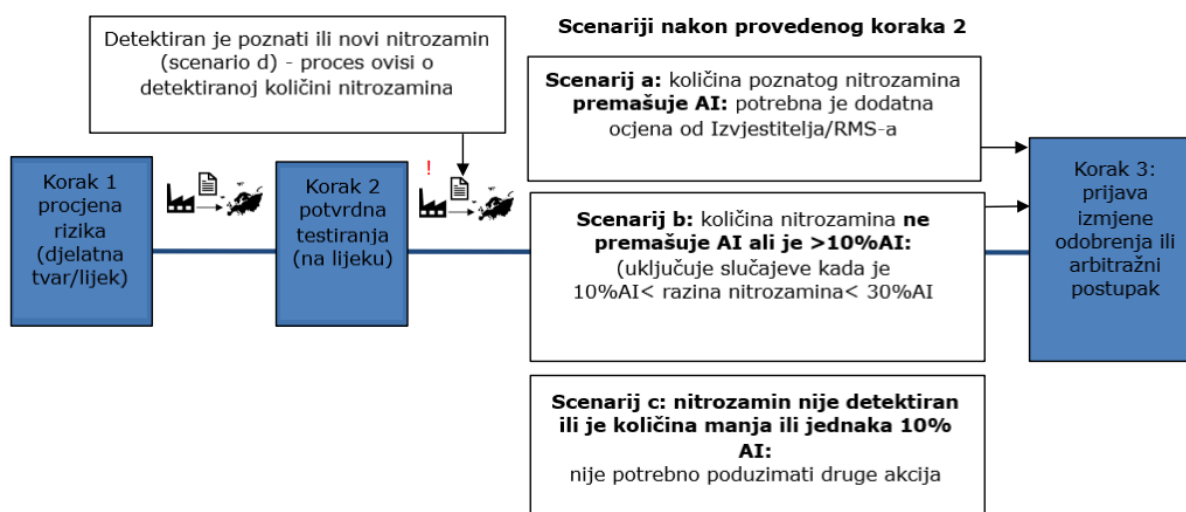
N-nitrozamin **nije detektiran** u lijeku ili je razina poznatog N-nitrozamina **ispod ili jednaka 10% ograničenja AI** na temelju načela ICH M7. Isti se scenarij primjenjuje u slučaju da je otkriveno više od 1 poznatog N-nitrozamina, a ukupni sadržaj N-nitrozamina je ispod ili jednak 10% AI granice temeljene na načelima ICH M7 za najpotentniji N-nitrozamin ili zbroj svih otkrivenih N-nitrozamina.

#### Scenarij d:

Jedan ili više novih N-nitrozamina koji još nisu procijenjeni u okviru članka 5(3) mišljenja CHMP-a je otkriveno u lijeku.

Za svaki od gore navedenih scenarija razvijen je proces kako bi se osigurala najbolja upotreba postojećih platformi (tj. Mreža za žurno uzbunjivanje (engl. *Rapid Alert Network* - RAN), Mreža za preispitivanje incidenata (engl. *Incident Review Network* - IRN)) i postojećih regulatornih putova (greške u kakvoći, izmjene odobrenja, arbitražni postupci). Kako bi se dodatno objasnila veza između mogućih ishoda poziva na pregled nositeljima odobrenja i gore navedenih scenarija, grafičko tumačenje poziva na pregled nositeljima odobrenja prikazano je na slici 6 u nastavku.

**Slika 6.** Prikaz ishoda vezanih za potencijalne scenarije detekcije nitrozamina



Kao što je prikazano u gornjem tijeku rada, mogući scenariji za postupanje s ishodima „call for review“ nositeljima odobrenja u koraku 2 su scenariji a, b i c. Osim toga, u slučajevima kada je identificiran novi N-nitrozamin, postupak za postupanje sa scenarijem d primjenjuje se prije donošenja odluke o tome koji će se drugi postupci (tj. oni za scenarije a, b ili c) naknadno primijeniti za upravljanje slučajem.

### Detaljan opis različitih scenarija

#### Proces postupanja u scenariju a

Nakon završetka koraka 2, nositelj odobrenja potvrđuje da je poznati N-nitrozamin prisutan u gotovom lijeku i da razina N-nitrozamina premašuje ograničenje AI temeljeno na načelima ICH

M7 (1 u 100 000 doživotnog rizika). Isti se scenarij primjenjuje kada je otkriveno više od 1 poznatog N-nitrozamina, a ukupni zbroj N-nitrozamina premašuje AI ograničenje najpotentnijeg N-nitrozamina ili zbroj svih otkrivenih N-nitrozamina prelazi 1 od 100.000 životnih rizika.

Ovisno o putu kojim je odobren lijek (NP, DCP, CP), različita će regulatorna tijela biti odgovorna za provedbu znanstvene procjene.

Ako su lijekovi o kojima je riječ registrirani centraliziranim postupkom ili centraliziranim i nacionalnim postupcima, Voditelj znanstvene procjene slučaja bit će CAP izvjestitelj (engl. *centrally approved procedure Rapporteur*). Uloga voditelja bit će pregled dostupnih informacija i procjena slučaja te davanje preporuka.

Ako su lijekovi o kojima je riječ samo nacionalno odobreni, nadležno tijelo za provođenje procjene bit će nacionalno regulatorno tijelo. Za proizvode odobrene putem postupaka međusobnog priznavanja i decentraliziranih postupaka (MRP/DCP) referentna država članica (RMS) preuzet će vodeću ulogu u provođenju procjene i davanju preporuka.

EMA, CHMP, CMDh i RAN mogu osigurati koordinaciju u slučajevima kada je pogođeno više CAP-ova, NAP-ova/MRP-ova/DCP-ova. Mreža za žurno obavješćivanje se paralelno obavještava kako bi se pokrenula procjena kritičnosti za svaku državu članicu zasebno.

U svojoj procjeni izvjestitelj/NCA/RMS pregledat će izvješće o istrazi tvrtke i korektivne akcije i preventivnog djelovanja (engl. *Corrective and Preventive Actions – CAPA*) te će dati preporuke o potrebnim radnjama na tržištu i prihvatljivosti CAPA-a. Voditelj mora također uzeti u obzir procjenu kritičnosti RAN-a kako bi predvidio potencijalne nestašice uzrokovane povlačenjem ili prekidom opskrbe lijeka. Ako se preporuča povlačenje proizvoda, svaki će član RAN-a postupiti u skladu sa svojim nacionalnim postupcima i ovisno o kritičnosti proizvoda za svoja tržišta. Vodeće tijelo i nacionalna nadležna tijela mogu privremeno razmotriti koncept

LTL-a u svrhu tržišne akcije za kritične proizvode kako je navedeno u članku 5(3) mišljenja CHMP-a.

Mreža za pregled incidenata (engl. *Incident Review Network*) se saziva kako bi se olakšala razmjena informacija i procijenilo jesu li potrebne dodatne mjere ili je opravdan drugačiji regulatorni put. Ako je se standardne mjere smatraju dostatnim za kontrolu/ublažavanje bilo kakvog rizika za javno zdravlje, izvjestitelj/NCA/RMS će stupiti u vezu s dotičnim nositeljem odobrenja kako bi raspravili korektivne radnje i vremenski okvir za podnošenje tražene varijacije MA. Ako je slučaj takav da je potreban drugačiji regulatorni put (npr. arbitražni postupak), tada se slijedi namjenski postupak.

#### Korištenje privremenih limita

Iznimno, kada se jedan N-nitrozamin ne može držati ispod utvrđene granice ili kada se ukupna razina rizika zbroja više od jednog otkrivenog N-nitrozamina ne može držati ispod rizika od 1 u 100 000 doživotnog rizika. Nositelj odobrenja treba nadležnim tijelima odmah podnijeti izvješće o istrazi uključujući potencijalni/utvrđeni temeljni uzrok(e), preventivne/korektivne radnje i temeljitu raspravu o utjecaju na omjer koristi/rizika uključujući sva relevantna razmatranja (npr. medicinske potrebe, dnevna doza, trajanje primjene i alternative liječenja, potencijalni rizik za pacijenta u slučaju nedostatka lijeka). O prihvatljivosti viših granica tada odlučuje dotično nadležno tijelo za svaki pojedinačni slučaj, nakon što su izvršili procjenu koristi/rizika. U takvim slučajevima, nadležno tijelo može razmotriti LTL koncept u ICH M7(R1).

U slučaju scenarija a (AI prekoračen), treba razmotriti sljedeće opcije:

- Ako su terapijske alternative dostupne i nema rizika od nestašica, CA mogu poduzeti tržišne radnje prema potrebi primjenom AI (nema potrebe za postavljanjem privremenog ograničenja).

- Ako terapijske alternative nisu dostupne i postoji rizik od nestašica u svim ili nekoliko država članica, potrebno je privremeno ograničenje.

Kada je predviđeno uspostavljanje privremenog ograničenja, prati se sljedeći postupak:

1. Nakon procjene slučaja od strane izvjestitelja proizvoda (za CAP-ove i CAP-ove/NAP-ove) i RMS-a (za NAP-ove/MRP-ove/DCP-ove) uključujući procjenu kritičnosti RAN-a, postavlja se pitanje (od strane izvjestitelja samo za CAP-ove ili uz konzultacije s CMDh za CAP/NAP) CHMP-u.
2. Pitanje će se usredotočiti na procjenu koristi i rizika o posljedicama prekida liječenja ili prelaska na alternativne tretmane u odnosu na rizik za pacijente od korištenja veće granice tijekom ograničenog vremenskog razdoblja i potencijalnu potrebu za dodatnim mjerama minimiziranja rizika. Pitanje će također uključivati savjete o najprikladnijoj metodologiji uključujući faktor koeficijenta koji će se primijeniti pri postavljanju međugraničnih ograničenja, kao i indikativni prag i maksimalno razdoblje dopušteno za njegovu primjenu.
3. Prije zaključenja CHMP se savjetuje s multidisciplinarnom znanstvenom skupinom (Multidisciplinarnom stručnom skupinom za nitrozamine).
4. CHMP će podržati odgovor prije davanja povratnih informacija izvjestiteljima/CMDh (povratne informacije će biti poslane CMDh-u kada su uključeni NAP-ovi) [11].

U skladu s regulatornim koracima koje su poduzela nadležna tijela nakon identifikacije N nitrozamina koji prelazi AI i navedenim u Q&A20, koncept kraćeg životnog vijeka (LTL) ili korištenje privremenih ograničenja mogu razmotriti vodeće tijelo i NCA-ovi na privremenoj osnovi kako bi se informiralo o tržišnim akcijama i istodobno osigurala dostupnost lijekova. Očekuje se da nositelji odobrenja bez odgode uspostave i provedu korektivne i preventivne radnje (CAPA) u odobrenim lijekovima kako bi se osigurala sigurnost pacijenata i kakvoća



proizvoda. Unatoč tome, provedba CAPA-a može zahtijevati neko vrijeme prije nego što nositelj odobrenja bude u mogućnosti ublažiti prisutnost identificiranog N-nitrozamina ispod utvrđene AI. Stoga, kako bi se izbjegao nepotreban rizik od prekida opskrbe, dogovoren je usklađeni pristup koji promiče uspostavu privremenih ograničenja na pojednostavljen način. Pristup je primjenjiv na sve odobrene proizvode kojima trajanje liječenja ne prelazi 10 godina te je vremenski okvir za implementaciju CAPA-e do 3 godine od uspostave i objave AI. Od nositelja odobrenja se očekuje da ubrzaju provedbu CAPA-e što je više moguće [1].

Pristup nije primjenjiv na niže navedene slučajeve u kojima se drugi pristupi mogu razmotriti u pojedinačnim slučajevima u dogovoru s odgovarajućim regulatornim tijelom:

- Odobreni lijekovi koji se uzimaju cijeli život (>10 godina);
- Provedba CAPA-e duža je od 3 godine od uspostave i objave AI-a;
- Lijekovi koji su u postupku davanja odobrenja za stavljanje lijeka u promet.

Gornja privremena ograničenja temelje se na LTL pristupu navedenom u smjernicama ICH M7, koristeći dva najkonzervativnija faktora prilagodbe (6,7 i 13,3 x AI). Ne bi se očekivalo da će primjena ovih faktora prilagodbe premašiti teoretski povećani rizik od raka od 1 na 100 000 tijekom razdoblja provedbe CAPA-e.

Zaduženo regulatorno tijelo treba ocijeniti pristup tijekom procjene slučaja i očekuje se da ga priopći dotičnom nositelju odobrenja kao dio zaključaka procjene. U smislu retrospektivne primjene, gdje su prethodno dogovorene restriktivnije privremene granice za neke proizvode kao dio procjene slučaja, na zahtjev nositelja odobrenja, vodeće tijelo može ponovno procijeniti privremene granice uzimajući u obzir ovaj pristup kontroli prisutnosti nitrozamina N AI tijekom implementacije CAPA-e.

Očekuje se da će nositelji odobrenja osigurati da se provedba odgovarajućih kontrola za otkrivene nitrozamine provede kao prioritet. Tijekom korištenja privremenog ograničenja, mjere praćenja mogu biti ocijenjene od strane vodećeg tijela prema potrebi. Međutim, ne očekuje se da će nositelji odobrenja uključiti ove privremene granice u specifikacije putem izmjene.

### Proces postupanja u scenariju b

Po završetku koraka 2, nositelj odobrenja potvrđuje da je prisutan jedan poznati N-nitrozamin i da razina N-nitrozamina ne prelazi granicu AI temeljenu na načelima ICH M7 (1 u 100 000 doživotnog rizika), međutim ukupni sadržaj N-nitrozamina je više od 10% ograničenja AI. Isti se scenarij primjenjuje kada je otkriveno više od 1 poznatog N-nitrozamina, a ukupni zbroj N nitrozamina ne prelazi granicu AI najjačeg N-nitrozamina, ali je veći od 10% granice AI, ili je zbroj svih otkrivenih N-nitrozamina ispod 1 u 100 000 doživotnog rizika.

Potrebno je podnijeti izmjenu odobrenja kako bi se uvela granica u specifikaciji gotovog lijeka. Tijekom ocjene izmjene RA će procijeniti podobnost za provođenje periodičkog testiranja (npr. testiranje na unaprijed odabranim serijama i/ili u unaprijed određenim intervalima). U tom bi

slučaju nositelj odobrenja trebao biti u mogućnosti dokazati da je sadržaj N-nitrozamina dosljedno ispod 30% granice AI.

#### Proces postupanja u scenariju c

Po završetku koraka 2 nositelj odobrenja potvrđuje da nisu identificirani nikakvi N-nitrozamini ili da su otkrivene razine N-nitrozamina dosljedno ispod 10% granice temeljene na ICH M7. Obavijest je evidentirana od strane dotičnog nadležnog tijela i nisu potrebne daljnje radnje.

Očekuje se da nositelji odobrenja zajedno s proizvođačima API-ja i FP-a preispitaju ishod procjene rizika i testiranja kad i kada nove informacije postanu dostupne (npr. o potencijalnim uzrocima stvaranja N-nitrozamina ili kontaminacije).

#### Proces postupanja u scenariju d

Po završetku koraka 2 nositelj odobrenja potvrđuje da je otkriven jedan ili više novih N-nitrozamina. Kako bi se odlučilo koji je scenarij (a, b, c) primjenjiv, potreban je dodatni korak za određivanje granice novog N-nitrozamina. Nositelj odobrenja treba upotrijebiti upute u pitanjima i odgovorima koje su objavili EMA i CMDh za izračun specifične granice za tvar za doživotnu izloženost prema preporuci ICH M7(R1) smjernice, TTC za N-nitrozamine od 18 ng/dan za klasu specifičan ili ograničenje temeljeno na SAR pristupu. Potrebno je podnijeti obrazloženje pristupa koji je poduzeo nositelj odobrenja, što će procijeniti Voditelj znanstvene procjene (izvjestitelji za CAPS, NCA/RMS za NAPs/MRP/DCP) u dogovoru sa SWP-om.

#### **Elementi koje treba uzeti u obzir pri odlučivanju o regulatornom putu**

Kao što je opisano u gore navedenim scenarijima a i b, kao zaključak „call for review“ i ovisno o specifičnostima lijeka na koji se utječe i identificiranih onečišćenja N-nitrozamina, postoje 2 moguća regulatorna puta za RA: upravljanje kroz odobrenje (a) izmjena(a) upravljačkom tijelu ili pokretanje arbitražnog postupka ako je potrebno.

Potrebno je razmotriti arbitražni postupak, na primjer, ako je prisutnost N-nitrozamina svojstvena za API (npr. strukturna značajka ili metabolička formacija) i/ili ako su prijavljeni novi elementi temeljnih uzroka koji zahtijevaju daljnju opsežnu procjenu. U svim ostalim situacijama predlaže se podnošenje izmjena odobrenja.

Elementi koje treba uzeti u obzir pri odlučivanju o najboljem regulatornom putu uključuju:

- kritičnost proizvoda (medicinska potreba, dostupnost alternativa);
- opseg kontaminacije (broj serija/proizvoda zahvaćenih/broj zahvaćenih država članica);
- razina kontaminacije (% AI prekoračen);
- izloženost pacijenata (razina kontaminacije, dnevna izloženost, trajanje izloženosti);
- vremensko razdoblje utjecaja;
- potencijalni/identificirani temeljni uzroci povezani s proizvodnim procesom/mjestom/proizvodom (novi temeljni uzrok/svojstven API-ju) [11].

### 3.12 EDQM ovjernice i odgovor na nitrozaminska onečišćenja

Od srpnja 2018. godine EDQM je aktivno uključen u aktivnosti vezane uz detekciju i kontrolu onečišćenja nitrozamina u aktivnim tvarima sartana (API) s tetrazolskim prstenom za koje postoje CEP ovjernice. Te su aktivnosti uključivale kontaktiranje nositelja CEP-a radi traženja podataka i korektivnih radnji, procjenu odgovora na takve zahtjeve, GMP inspekcije proizvodnih mjesta, suspenziju CEP-ova, gdje je to prikladno, i njihovo ponovno uspostavljanje nakon provedbe odgovarajućih korektivnih radnji. Dodatno, za sve API-je, za nove primjene za CEP, tijekom obnavljanja CEP-a ili tijekom bilo kakvih revizija gdje se modificira sintetski put ili izvor, sustavno se procjenjuje mogućnost prisutnosti takvih onečišćenja nitrozamina. EDQM je također bio uključen u aktivnosti OMCL mreže uključujući koordinaciju uzorkovanja i ispitivanja. Ph. Eur. monografije za API-je sartana s tetrazolnim prstenom revidirane su kao posljedica prisutnosti nitrozamina u ovim tvarima.

Kao što je objavljeno na web stranicama EMA i EDQM, nedavno je utvrđena prisutnost nitrozaminskih onečišćenja u lijekovima koji sadrže ranitidin. Kao rezultat toga, poduzete su radnje za obustavu relevantnih CEP-ova i čeka se više informacija kako bi se bolje razumio glavni uzrok prisutnosti ovog nitrozaminskog onečišćenja.

EMA i CMDh objavili su dokumente na svojim web stranicama, (EMA/189634/2019 i CMDh/404/2019), „Informacije o nitrozaminima za nositelje odobrenja za stavljanje u promet” koji zahtijevaju od nositelja odobrenja za stavljanje u promet (MAH) da slijede istražni postupak opisan za sintetizirane API-je. Iako EDQM ne očekuje da će ovaj problem utjecati na mnoge tvari, sada je prikladno proširiti pregled na sve ostale API-je proizvedene kemijskom sintezom za koje su odobreni CEP-ovi. EDQM stoga zahtijeva da nositelji takvih CEP-ova slijede postupak opisan ovdje (koji je sličan postupnom pristupu onom za nositelja odobrenja):

**Korak 1 - Procjena rizika:** Tvrtke koje posjeduju CEP trebale bi izvršiti procjenu rizika svojih kemijski sintetiziranih API-ja u pogledu stvaranja nitrozamina, koristeći načela upravljanja rizicima u kakvoći, kako je navedeno u smjernicama ICH Q9. Treba primijeniti načela opisana u smjernicama ICH M7 u vezi s toksikološkom procjenom, strategijom kontrole i promjenama u proizvodnom procesu za aktivne tvari.

Nositelji CEP-a trebali bi odrediti prioritet tvari kako bi utvrdili redoslijed kojim će se ocjenjivati. Čimbenici koji se mogu uzeti u obzir navedeni su u namjenskim dokumentima Pitanja i odgovori EMA/CHMP/428592/2019 Rev. 1 i CMDh/405/2019, Rev. 1 koji su dostupni na web-mjestima EMA-e i CMDh-a i ako postoje tvari identificirani kao visoki prioritet, procjena rizika treba se izvršiti odmah. Procjena rizika trebala bi se baviti ne samo rizicima proizvodnog procesa, već i rizicima od uvođenja materijala koji se koriste u proizvodnom procesu (npr. početni materijali, reagensi, otapala – svježa i oporabljena itd.).

Procjena rizika za sve CEP-ove trebala je biti zaključena najkasnije do 26. ožujka 2020.

Nositelji CEP-a nisu obavezni potvrditi EDQM-u da je korak 1 dovršen kada nije utvrđen nikakav rizik. Međutim, ako se utvrdi rizik, EDQM treba odmah obavijestiti i tvrtka treba prijeći na korak 2, potvrdno testiranje, a vremenski rokovi kada će rezultati potvrdnog testiranja biti dostavljeni EDQM-u trebaju biti naznačeni EDQM-u.

Ishod koraka 1 koji se odnosi na procjenu rizika obavljenu za CEP treba priopćiti klijentima u svim slučajevima (čak i ako nije identificiran rizik) kako bi nositelji odobrenja mogli koristiti te informacije za ispunjavanje svojih odgovornosti kako je opisano u dokumentima, EMA /189634/2019 i CMDh/404/2019 ranije spomenuti.

**Korak 2 - Potvrdno testiranje:** u slučaju da se kao rezultat procjene rizika utvrdi rizik od prisutnosti nitrozamina, potrebno je provesti potvrdno testiranje koristeći odgovarajuće

validirane i osjetljive metode u skladu s prioritetom koji proizlazi iz procjene rizika provedene u korak 1. Tvari koje su identificirane kao visokoprioritetne treba ispitati što je prije moguće.

Sve API-je za koje je utvrđeno da su izloženi riziku od prisutnosti nitrozamina treba testirati i rezultate dostaviti EDQM-u s, ako je potrebno, prijedlogom za naknadne radnje (kao što je revizija CEP-a).

Nositelji CEP-a trebali bi odmah obavijestiti EDQM ako testovi potvrde prisutnost nitrozaminskih onečišćenja, bez obzira na otkrivenu količinu, i dostaviti rezultate. Tvrtke bi zatim trebale napredovati do koraka 3 nakon što obavijeste EDQM o planu i vremenskim okvirima za dovršetak koraka 3.

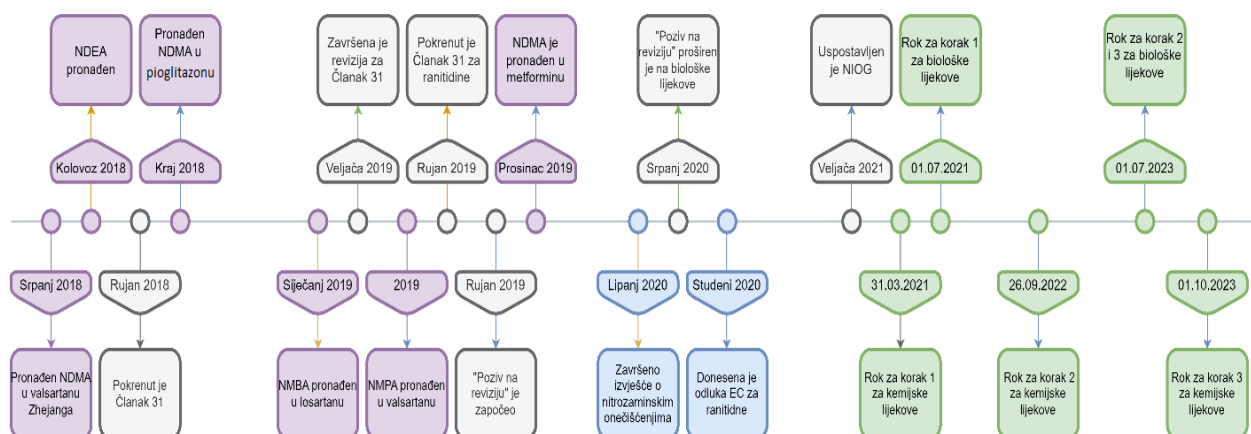
**Korak 3 - Revizija CEP-a:** Tamo gdje su otkrivena nitrozaminska onečišćenja, nositelji CEP-a trebaju podnijeti zahtjev za reviziju svojih zahtjeva(a) na vrijeme kako bi uveli sve potrebne promjene, kao što su izmjene proizvodnog procesa ili izmjene specifikacija i uvođenje kontrola.

EDQM može kontaktirati nositelje CEP-a za informacije o riziku od nitrozamina u bilo kojem koraku ovog pregleda i na sve takve zahtjeve treba odgovoriti u potpunosti i pravodobno. EDQM će poduzeti radnje u vezi s bilo kojim CEP-om (npr. suspenzija) kada postanu dostupne informacije o neprihvatljivoj razini onečišćenja nitrozamina u aktivnoj tvari koja je predmet CEP-a.

EDQM podsjeća nositelje CEP-a da bi trebali pružiti odgovarajuće informacije koje se odnose na procjenu rizika koju su izvršili za svoj CEP svojim klijentima u svim slučajevima (za korake 1 do 3, te za korak 1 čak i ako nije identificiran rizik) tako da Nositelji odobrenja mogu koristiti ove informacije kako bi pravodobno ispunili svoje odgovornosti kako je opisano u ranije spomenutim dokumentima EMA/189634/2019 i CMDh/404/2019 [33].

## 4. Rasprava

Nitrozamini su odavno poznati kao kancerogene tvari prisutne u hrani, kozmetici te duhanskom dimu, no otkriće nitrozamina u valsartanu 2018. godine dovelo je do detaljnijih analiza koje su ukazale na raširenu prisutnost nitrozamina i u lijekovima. Pronalazak nitrozaminskih onečišćenja u valsartanu trigeriralo je niz regulatornih akcija koji su isprva bili ograničeni na skupinu sartana sa tetrazolnim prstenom ali su se vrlo brzo proširili i na druge lijekove. Isprva su se provjeravale djelatne tvari ali ubrzo se pokazalo da nitrozamini mogu biti prisutni i u gotovom lijeku te da postoji čitav niz potencijalnih uzroka prisutnosti nitrozamina. S obzirom na kancerogeni potencijal nitrozamina ovim otkrićem javila se zabrinutost od strane regulatornih agencija diljem svijeta. Europska agencija za lijekove provela je opsežnu istragu uzroka prisutnosti nitrozamina te metoda prevencije nastanka, detekcije i kontrole. U periodu od 2018. do 2023. uspostavljene su brojne smjernice i sigurnosne granice za nitrozamine u lijekovima. Ove granice su se mijenjale kako su se saznanja i istraživanja razvijali. Taj posao nije završen, i dalje se svako malo otkrije neki novi nitrozamin specifičan za određenu djelatnu tvar ili lijek a regulatorne agencije kao i farmaceutska industrija morat će biti u toku s novim saznanjima te prilagođavati svoje smjernice i procese.



**Slika 7.** Vremenska crta važnih trenutaka te regulatornih odgovora na nitrozaminska onečišćenja



## 5. Zaključak

Kao regulatorni rezultat istrage nitrozamina nositelji odobrenja svih lijekova na tržištu Europske unije, kemijskih ali i bioloških, dužni su provesti procjenu rizika prisutnosti nitrozamina. Ako se potvrdnim ispitivanjima dokaže prisutnost nitrozamina u razini višoj od propisanih dnevnih limita nositelji odobrenja dužni su putem izmjena/e odobrenja za stavljanje lijeka u promet prilagoditi proizvodne procese kako bi se prisutnost nitrozamina uklonila ili smanjila na minimum. Budući da kontaminacija nitrozaminima utječe na pacijente diljem svijeta, regulatorna tijela Europske unije, poput EMA-e, surađuju s međunarodnim partnerima i nastavit će poduzimati potrebne mjere kako bi osigurali da se proizvođači i nositelji odobrenja za stavljanje u promet pridržavaju preporuka u vezi s nitrozaminima i drugim onečišćenjima, istovremeno osiguravajući da pacijenti imaju pristup sigurnim i učinkovitim lijekovima.

## 6. Literatura

1. European Medicines Agency (EMA): Assessment report on Article 5(3) of Regulation (EC) No 726/2004 referral on nitrosamine impurities in human medicinal products
2. Gushgari A, Halden R. Critical review of major sources of human exposure to N-nitrosamines, *Chemosphere*, 2018, 210, pp. 1124–1136, doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.098>.
3. Li K, Ricker K, Tsai F i sur. Estimated cancer risks associated with nitrosamine contamination in commonly used medications, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2021, 18(18), p. 9465, doi: <https://doi.org/10.3390/ijerph18189465>.
4. Li Y, Hecht S. Metabolic activation and DNA interactions of carcinogenic N-nitrosamines to which humans are commonly exposed, *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(9), p. 4559. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms23094559>.
5. Lijinsky W. N-nitroso compounds, *Patty's Toxicology* [Preprint], 2001, doi: <https://doi.org/10.1002/0471435139.tox055>.
6. Fahrner J, Christman M. DNA Alkylation Damage by Nitrosamines and Relevant DNA Repair Pathways, 2023, *Int. J. Mol. Sci.*, 24, 4684, doi: <https://doi.org/10.3390/ijms24054684>
7. Sedlo I, Kolonić T, Tomić S. Presence of nitrosamine impurities in medicinal products, *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 2021, 72(1), pp. 1–5., doi: <https://doi.org/10.2478/aiht-2021-72-3491>.
8. Tuesuwan B, Vongsutilers V. Nitrosamine Contamination in Pharmaceuticals: Threat, Impact, and Control, 2021, *Journal of Pharmaceutical Sciences* 110 3118–3128, doi: <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2021.04.021>

9. European Medicines Agency (EMA): 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
10. European Medicines Agency (EMA): CMDh practical guidance for Marketing Authorisation Holders of nationally authorised products (incl. MRP/DCP) in relation to the Art. 5(3) Referral on Nitrosamines
11. European Medicines Agency (EMA): European Medicines Regulatory Network approach for the implementation of the CHMP Opinion pursuant to Article 5(3) of Regulation (EC) No 726/2004 for nitrosamine impurities in human medicines
12. Horne S, Vera M, Nagavelli L i sur. Regulatory experiences with root causes and risk factors for nitrosamine impurities in pharmaceuticals, *Journal of Pharmaceutical Sciences* [Preprint], 2023, doi: <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2022.12.022>.
13. Yang CS, Smith T, Ishizaki H, Hong Jy. Enzyme mechanisms in the metabolism of nitrosamines, *IARC Scientific Publications*, 1991, (105):265-274
14. European Medicines Agency (EMA): Assessment report. Referral under Article 31 of Directive 2001/83/EC, INN: ranitidine. Procedure number: EMEA/H/A-31/1491
15. Lijekovi Iz Skupine Sartana: Tvrtke Trebaju Preispitati Proizvodne ... (no date), available at: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/angiotensin-ii-receptor-antagonists-sartans-article-31-referral-sartan-medicines-companies-review\\_hr.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/angiotensin-ii-receptor-antagonists-sartans-article-31-referral-sartan-medicines-companies-review_hr.pdf) (Accessed: April 2, 2023).
16. European Medicines Agency (EMA): Angiotensin-II-receptor antagonists (sartans) Article 31 referral - Annex I, dostupno na:

[https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/angiotensin-ii-receptor-antagonists-sartans-article-31-referral-annex-i\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/angiotensin-ii-receptor-antagonists-sartans-article-31-referral-annex-i_en.pdf), pristupljeno 20.05.2023.

17. European Medicines Agency (EMA): Nitrosamines: Angiotensin-II-receptor antagonists (sartans) Article 31 referral – Annex I – Impact of the Article 5(3) scientific opinion on nitrosamines, dostupno na: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/angiotensin-ii-receptor-antagonists-sartans-article-31-referral-annex-i-impact-article-53-scientific\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/angiotensin-ii-receptor-antagonists-sartans-article-31-referral-annex-i-impact-article-53-scientific_en.pdf), pristupljeno 20.05.2023.

18. Aldawsari F, Alshehry Y, Alghamdi T. N-nitrosodimethylamine (NDMA) contamination of ranitidine products: A review of recent findings, JOURNAL OF FOOD AND DRUG ANALYSIS 2021;29:39e45, doi: <https://doi.org/10.38212/2224-6614.1133>

19. Iz EMA obavijesti o suspenziji ranitidina [https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/ranitidine-article-31-referral-suspension-ranitidine-medicines-eu\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/ranitidine-article-31-referral-suspension-ranitidine-medicines-eu_en.pdf)

20. Ranitidin referal, aneks 3, [https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/ranitidine-article-31-referral-annex-iii\\_hr.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/ranitidine-article-31-referral-annex-iii_hr.pdf)

21. European Medicines Agency (EMA): Popis nacionalno odobrenih lijekova, dostupno na: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/ranitidine-article-31-referral-annex-i\\_hr.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/ranitidine-article-31-referral-annex-i_hr.pdf), pristupljeno 20.05.2023.

22. HALMED Obavijest o detekciji nitrozaminskih onečišćenja u tragovima u malom broju lijekova s metforminom izvan Europske unije, dostupno na: <https://www.halmed.hr/Novosti-i-edukacije/Novosti/2019/Obavijest-o-detekciji-nitrozaminskih-oneciscenja-u-tragovima-u-malom-broju-lijekova-s-metforminom-izvan-Europske-unije/2251/>, pristupljeno 20.05.2023.

23. Schlingemann J I sur. Avoiding N-nitrosodimethylamine formation in metformin pharmaceuticals by limiting dimethylamine and nitrite, *International Journal of Pharmaceutics* 620, 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.121740>
24. Zmysłowski A, Ksiazek I, Szterk A. N-Nitrosodimethylamine Contamination in the Metformin Finished Products, *Molecules* 2020, 25, 5304; doi:10.3390/molecules25225304
25. Hao G I sur. N-Nitrosodimethylamine formation in metformin hydrochloride sustained-release tablets: Effects of metformin and hypromellose used in drug product formulation, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 222 115066, 2023, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2022.115066>
26. Keire D I sur. International Regulatory Collaboration on the Analysis of Nitrosamines in Metformin-Containing Medicines, *The AAPS Journal* 24: 56, 2022, doi: <https://doi.org/10.1208/s12248-022-00702-4>
27. Konstantinou E I sur. Tobacco-specific nitrosamines: A literature review, *Food and Chemical Toxicology*, Volume 118, Pages 198-203, 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.05.008>
28. Wang J I sur. Nitrate and Nitrite Promote Formation of Tobacco-Specific Nitrosamines via Nitrogen Oxides Intermediates during Postcured Storage under Warm Temperature, *Journal of Chemistry*, Article ID 6135215, 11 pages, 2017, doi: <https://doi.org/10.1155/2017/6135215>
29. European Medicines Agency (EMA): Meeting highlights from the Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) 13-16 September 2021, dostupno na: <https://www.ema.europa.eu/en/news/meeting-highlights-committee-medicinal-products-human-use-chmp-13-16-september-2021>, pristupljeno 07.06.2023.

30. European Medicines Agency (EMA): CMDh Questions & Answers on Biologicals. Dostupno na: [https://www.hma.eu/fileadmin/dateien/Human\\_Medicines/CMD\\_h\\_/Questions\\_Answers/CM Dh\\_269\\_2012\\_Rev.\\_2\\_2020\\_02\\_clean\\_Q\\_A\\_on\\_biologicals.pdf](https://www.hma.eu/fileadmin/dateien/Human_Medicines/CMD_h_/Questions_Answers/CM Dh_269_2012_Rev._2_2020_02_clean_Q_A_on_biologicals.pdf), pristupljeno 20.05.2023.
31. European Medicines Agency (EMA): CMDh practical guidance for Marketing Authorisation Holders of nationally authorised products (incl. MRP/DCP) in relation to the Art. 5(3) Referral on Nitrosamines, pristupljeno 25.05.2023.
32. Yang J i sur. A Cautionary Tale: Quantitative LC-HRMS Analytical Procedures for the Analysis of N-Nitrosodimethylamine in Metformin, The AAPS Journal 22: 89, 2020, DOI: 10.1208/s12248-020-00473-w
33. EDQM upute. Dostupno na: [https://www.edqm.eu/en/-/announcement-to-all-cep-holders-for-synthesised-apis-regarding-presence-of-nitrosamines-1?p\\_1\\_back\\_url=%2Fen%2Fsearch-edqm%3Fq%3Dnitrosamines](https://www.edqm.eu/en/-/announcement-to-all-cep-holders-for-synthesised-apis-regarding-presence-of-nitrosamines-1?p_1_back_url=%2Fen%2Fsearch-edqm%3Fq%3Dnitrosamines), pristupljeno 15.05.2023.

## Popis skraćenica

<b>AI</b>	Prihvatljiv unos (engl. <i>acceptable intake</i> )
<b>API</b>	Djelatna tvar (engl. <i>active pharmaceutical ingredient</i> )
<b>ARB</b>	Blokatori angiotenzinskih receptora (eng. <i>angiotensin receptor blockers</i> )
<b>BMDL</b>	Statistička donja granica pouzdanosti referentnih doza (engl. <i>benchmark dose lower confidence limit</i> )
<b>CPDB</b>	Baza podataka o kancerogenima (engl. <i>Carcinogenic Potency Database</i> )
<b>EDQM</b>	Europsko ravnateljstvo za kakvoću lijekova i zdravstvenu skrb (engl. <i>European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare</i> )
<b>EMA</b>	Europska agencija za lijekove (engl. <i>European Medicines Agency</i> )
<b>FDA</b>	Američka agencija za hranu i lijekove (engl. <i>Food and Drug Administration</i> )
<b>FP</b>	Gotov lijek (engl. <i>finished product</i> )
<b>GC</b>	Plinska kromatografija (engl. <i>Gas Chromatography</i> )
<b>IRN</b>	Mreža za preispitivanje incidenata (engl. <i>Incident Review Network</i> )
<b>CAP</b>	Centralizirano odobren lijek (engl. <i>centrally approved product</i> )
<b>CAPA</b>	Korektivna akcija i preventivno djelovanje (engl. <i>Corrective and Preventive Actions</i> )
<b>CEP</b>	Ovjernica o prikladnosti za monografije Europske farmakopeje (engl. <i>certificate of suitability</i> )
<b>CHMP</b>	Povjerenstvo za lijekove za primjenu kod ljudi (engl. <i>Committee for Medicinal Product for Human Use</i> )
<b>CMDh</b>	Koordinacijska grupa za postupak međusobnog priznavanja i decentralizirani postupak za humane lijekove (engl. <i>Coordination Group for Mutual Recognition and Decentralised Procedure, Human Medicinal Products</i> )

<b>DMA</b>	Dimetilamin
<b>DNA</b>	Deoksiribonukleinska kiselina (engl. <i>deoxyribonucleic acid</i> )
<b>HALMED</b>	Hrvatska agencija za lijekove i medicinske proizvode
<b>HPLC</b>	Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. <i>high Performance Liquid Chromatography</i> )
<b>IARC</b>	Međunarodna agencija za istraživanje raka (engl. <i>International Agency for Research on Cancer - IARC</i> )
<b>ICH</b>	Međunarodno vijeća za harmonizaciju tehničkih zahtjeva za lijekove za humanu upotrebu (engl. <i>International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use</i> )
<b>LC</b>	Tekuća kromatografija (engl. <i>Liquid Chromatography</i> )
<b>LOQ</b>	Granica kvantifikacije (engl. <i>limit of quantification</i> )
<b>LTL</b>	„Kraći od životnog vijeka“ (engl. <i>less-than-lifetime</i> )
<b>MDD</b>	Maksimalna dnevna doza
<b>MS</b>	Masena spektrometrija
<b>NAB</b>	N-nitrosoanabazin
<b>NAT</b>	N-nitrosoanatabin
<b>NAP</b>	Nacionalno odobren lijek (engl. <i>nationally approved product</i> )
<b>NDMA</b>	N-nitrozodimetilamin
<b>NDEA</b>	N-nitrozodietilamin
<b>NIOG</b>	Grupa za nadzor implementacije odluke CHMP-a o nitrozaminima (engl. <i>Nitrosamine Implementation Oversight Group</i> )
<b>NPIP</b>	N-nitrozopiperidin
<b>NPYR</b>	N-nitrozopirolidin
<b>NDELA</b>	N-nitrozodietanolamin



<b>NNK</b>	nitrozamin keton izveden iz nikotina
<b>NNAL</b>	nitrozamin alkohol izveden iz nikotina
<b>NNN</b>	N-nitrozonornikotin
<b>NMBA</b>	N-nitrozo-N-metil-4-aminobutanska kiselina
<b>NDIPA</b>	N-nitrozodiizopropilamin
<b>NIPEA</b>	N-nitrozoetilizopropilamin
<b>NMPA</b>	N-nitrozometilfenilamin
<b>OMCL</b>	Službeni laboratorij za provjeru kakvoće lijeka (engl. <i>official medicines control laboratories</i> )
<b>PPI</b>	Inhibitori protonske pumpe (engl. <i>proton pump inhibitors</i> )
<b>RAN</b>	Mreža za žurno uzbunjivanje (engl. <i>rapid alert network</i> )
<b>RMS</b>	Referentna država članica (engl. <i>Reference Member State</i> )
<b>SAR</b>	Odnos strukture i reaktivnosti (engl. <i>structure–activity-relationship</i> )
<b>SFC</b>	Superkritična fluidna kromatografija (engl. <i>Supercritical Fluid Chromatography</i> )
<b>SWP</b>	Radna skupina za sigurnost (engl. <i>Safety Working Party</i> )
<b>TD50</b>	Središnja toksična doza (engl. <i>toxic dose</i> )
<b>TEA</b>	Analiza onečišćenja u tragovima (engl. <i>Trace Elemental Analysis</i> )
<b>TLC</b>	Tankoslojna kromatografija (engl. <i>Thin Layer Chromatography</i> )
<b>TSNA</b>	Specifični duhanski nitrozamini (engl. <i>tobacco-specific nitrosamines</i> )
<b>TTC</b>	Prag toksikološkog rizika (engl. <i>threshold of toxicological concern</i> )
<b>WHO</b>	Svjetska zdravstvena organizacija (engl. <i>World Health Organisation</i> )

