

Nitrosamine in Arzneimitteln: relevant in Entwicklung, Zulassung, Qualitätskontrolle und Überwachung

Bericht von der Online-Weiterbildung „Verunreinigungen in Arzneimitteln – Fokus Nitrosamine“, FORUM Institut, 12. November 2021

von Dr. Sabine Paris, GMP-Verlag Peither AG

„Verunreinigungen in Arzneimitteln – Fokus Nitrosamine“ titelte eine Online-Weiterbildung vom FORUM Institut am 12. November 2021. Vier ausgewiesene Fachleute aus Behörde, Industrie und Beratung beleuchteten alle Aspekte zu Nitrosaminen, die im Lebenszyklus eines Arzneimittels eine Rolle spielen: Regulatorische Anforderungen, Entwicklung, Verantwortung des Herstellers und der Lieferanten sowie Analytik und GMP-Überwachung.

Regulatorischer Rahmen

Dr. Andreas Grummel, Experte für pharmazeutische Qualität beim BfArM in Bonn, startete in den Seminartag mit einem Update zu den regulatorischen Anforderungen. Er erläuterte die wichtigsten Prinzipien der **ICH Guideline M7(R1) on assessment and control of DNA reactive (mutagenic) impurities in pharmaceuticals to limit potential carcinogenic risk¹**. Mit der Einführung des **Threshold of Toxicological Concern (TTC)** wurde ein Paradigmenwechsel eingeläutet. Für genotoxische Substanzen, die potentiell in jeder Konzentration zu DNA-Schäden führen können, kann eigentlich keine sichere Dosis festgelegt werden. Aber für Arzneimittel wird ein Grenzwert benötigt! So wurde mit dem TTC-Prinzip eine als mit einem akzeptablen Risiko verbundene Dosis von 1,5 µg/Tag identifiziert. Der Wert ergab sich aus Extrapolationen von Daten aus der Carcinogenic Potency Database, wobei ein zusätzlicher Krebsstodesfall auf 100.000 exponierten Personen als akzeptabel eingestuft wurde. Das ist ein rein formales und sehr konservatives Vorgehen. In den meisten Fällen wird das Risiko damit überschätzt. Dies gilt allerdings nicht für Substanzen des sogenannten „**Cohort of Concern**“, wie Aflatoxine, N-Nitroso und Azoxyverbindungen. Deren akzeptable Aufnahmemengen liegen meist weit unter dem TTC. Das potenteste Nitrosamin hat einen Acceptable Intake (AI) von 26,5 ng/Tag!

ICH M7 ist anwendbar für neue Wirkstoffe und neue Humanarzneimittel von der klinischen Entwicklung bis zur Zulassung. Zusätzlich greift die Guideline auch bei bereits zugelassenen Produkten, wenn

- Änderungen bei der Wirkstoffherstellung zu neuen Verunreinigungen führen oder bestehende Spezifikationen nicht mehr eingehalten werden können,
- Änderungen der Formulierung oder Produktzusammensetzung zu neuen Abbauprodukten führen oder bestehende Spezifikationen nicht mehr eingehalten werden können oder
- die Indikation oder Dosierung so geändert wird, dass sich das akzeptable Krebsrisiko für das

¹ ICH M7(R1): <https://www.ema.europa.eu/en/ich-m7-assessment-control-dna-reactive-mutagenic-impurities-pharmaceuticals-limit-potential>

Produkt verändert.

In einer Neubewertung werden alle Änderungen näher daraufhin betrachtet, ob sie das potentielle Risiko durch mutagene Verunreinigungen verändern können. Falls erforderlich, sollte eine neue Prozesskontrollstrategie bei der Zulassungsbehörde eingereicht werden.

10 mögliche Ursachen für Nitrosamin-Verunreinigungen

Für **Nitrosamin-Verunreinigungen** führte Andreas Grummel folgende mögliche **Ursachen** an:

- Verwendung von Natriumnitrit oder anderen Nitriten in Gegenwart von sekundären oder tertiären Aminen oder quaternären Ammoniumsalzen
- Verwendung von Natriumnitrit oder anderen Nitrosierungsmitteln gemeinsam mit Reagenzien, Lösungsmitteln und Katalysatoren (Abbau zu sekundären oder tertiären Aminen)
- Verwendung von kontaminierten Rohstoffen im API-Herstellungsprozess
- Verwendung von rückgewonnenen Materialien (z. B. Lösungsmittel, Reagenzien, Katalysatoren)
- Kontaminierte Ausgangsmaterialien
- Kreuzkontaminationen
- Abbauprozesse von Ausgangsstoffen, Zwischenprodukten und APIs
- Verwendung bestimmter Verpackungsmaterialien, die Nitrocellulose enthalten
- Hilfsstoffe, die Nitrit enthalten
- Analytische Methoden, z. B. höhere Temperaturen bei Messungen können Nitrosaminbildung fördern

Nitrosamin-Verunreinigungen waren 2018 erstmalig in der Wirkstoffgruppe der Sartane festgestellt worden. Die Europäische Kommission hatte 2019 ein **Referral-Verfahren nach § 31 der Richtlinie 2001/83/EG** eingeleitet. Neben Bewertungen des Herstellungsprozesses wurde auch die Einführung einer Kontrollstrategie gefordert. Die ebenfalls überarbeiteten Ph. Eur.-Monographien legten Grenzwerte für N-Nitrosodimethylamin (NDMA) und N-Nitrosodiethylamin (NDEA) fest.

Nach dem Ende der Übergangszeit von 2 Jahren sind seit April 2021 0,03 ppm als Grenzwert für beide Nitrosamine einzuhalten. Dieser Wert ergibt sich aus dem technischen Limit des analytischen Verfahrens. Das kumulative Risiko der Nitrosamine für eine Krebserkrankung darf bei lebenslanger Einnahme nicht größer sein als 1:100.000.

Auf Antrag des Direktors der EMA nach **Artikel 5 Absatz 3 der Verordnung (EG) Nr. 726/2004** hat der Ausschuss für Humanarzneimittel (**CHMP**) **Leitlinien zur Vermeidung von Nitrosamin-Verunreinigungen in Humanarzneimitteln** erarbeitet².

„**Ein Artikel 5(3)-Verfahren ist rechtlich nicht bindend**“, so die persönliche Meinung des Referenten. In Deutschland hätten bislang auch nur ca. 80 % der Zulassungsinhaber diesbezügliche Unterlagen eingereicht.

Überprüfung in drei Schritten

Die Leitlinien des CHMP sehen eine **Überprüfung in drei Schritten** vor. Im **ersten Schritt** wird eine **Risikobewertung** durchgeführt, die ICH Q9 Qualitätsrisikomanagement und ICH M7 berücksichtigt. Wenn in Schritt 1 ein Risiko der Nitrosaminbildung festgestellt wurde, muss im **zweiten Schritt** ein

² Dokumente und Guidances der EMA zu Nitrosaminen: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/post-authorisation/referral-procedures/nitrosamine-impurities>

Bestätigungstest durchgeführt werden unter Verwendung von validierten und ausreichend empfindlichen Methoden. Die Ergebnisse der Bestätigungstests sollten spätestens bis zum **26. September 2022** an die Zulassungsbehörde übersandt werden. Allerdings sollten Zulassungsinhaber (MAHs) die zuständigen Behörden unverzüglich informieren, wenn die Tests das Vorhandensein von Nitrosaminen im Arzneimittel bestätigen.

Das BfArM hat eine **analytische Methode (LC-MS-MS)** entwickelt, mit der 13 verschiedene Nitrosamine in einem Analysengang identifiziert werden können. Die diesbezügliche Publikation wird bald erwartet.

Nach dem Stichtag im September 2022 ist das Thema aber noch nicht erledigt: Die Risikobewertung ist jeweils neu durchzuführen, wenn neue potentielle Ursachen für Nitrosamine identifiziert werden.

Für NDMA und NDEA sind für Sartane mit Tetrazolring akzeptable Grenzwerte festgelegt worden. Vorläufige Grenzwerte für andere Nitrosamine können auf Basis der maximalen Tagesdosis und der Behandlung über die gesamte Lebensdauer berechnet werden. Als „Default-Limit“, wenn aufgrund von fehlenden Daten kein Wert bestimmt werden kann, ist – sehr konservativ – 18 ng/Tag festgelegt worden.

Skip Testing gemäß ICH Q6A ist zulässig bei Werten $\leq 30\%$ des AI-Grenzwertes. Skip Testing erlaubt Prüfungen bei der Freigabe von vorausgewählten Chargen und/oder in vorher festgelegten Intervallen. Bei Werten konstant $\leq 10\%$ des AI ist sogar eine komplette Streichung des Tests aus der Spezifikation möglich. Die Ursache für die Verunreinigung muss jeweils bekannt sein.

Wenn mehrere Nitrosamine spezifiziert wurden, sind zwei Vorgehensweisen möglich, die jeweils zu begründen sind:

1. Die Summe aller Nitrosamine ist nicht größer als der AI vom potentesten Nitrosamin.
2. Das Gesamtrisiko der Nitrosamine ist nicht größer als 1:100.000.

In **Schritt 3** des Verfahrens erfolgt dann die Änderung der Zulassungsdokumentation. Bis zum 26. September 2022 sollten die MAHs alle notwendigen Änderungen des Herstellungsprozesses des Wirkstoffs oder des Fertigarzneimittels beantragen.

Q&A-Papier der EMA

Das **Q&A-Papier der EMA zu Nitrosaminen** bezeichnete Andreas Grummel als gute Handreichung für die MAHs. Die einzelnen Fragen leiten durch den Prozess und geben Tipps z. B. zur Durchführung der Risikobewertung sowie der Bestätigungstests. Dieser Artikel greift einige der angesprochenen Fragen heraus.

„Die analytische Methode ist das A und O!“

Frage 9 des Q&A befasst sich mit den Analysemethoden, die ausreichend empfindlich sein müssen, um Spuren von Nitrosamin-Verunreinigungen nachweisen und quantifizieren zu können. In Schritt 2 ist daher auch die Bestimmungsgrenze (LoQ) zu zeigen. Wird eine quantitative Bestimmung durchgeführt, um auf eine Spezifikation verzichten zu können, sollte das $LoQ \leq 10\%$ des zulässigen Grenzwerts sein. Wenn mehrere Nitrosamine zu bestimmen sind, können auch unterschiedliche Methoden angewendet werden. Diskutiert werde im BfArM derzeit noch, ob es möglich ist, bei mehreren Nitrosaminen die Summe der einzelnen LoQs im Fertigarzneimittel zu verwenden, um zu beurteilen, ob 10% des Risikos 1:100.000 unterschritten wird.

In **Frage 10** werden Grenzwertberechnungen für Nitrosamine vorgestellt: Bestimmung des AI bei einer lebenslangen täglichen Verabreichung der maximalen Tagesdosis des Arzneimittels basierend auf ICH M7. Für einige spezifische Nitrosamine sind Grenzwerte festgelegt worden. Wenn es gar keine Daten geben sollte, kann der klassenspezifische TTC-Wert für Nitrosamine von 18 ng/Tag verwendet werden.

Frage 14 beleuchtet das Vorgehen bei neuen und laufenden Zulassungsanträgen. Eine Risikobewertung gemäß Schritt 1 sollte als Anlage zu Modul 1 mit einem Verweis auf Modul 3.2 eingereicht werden. Wird ein Risiko identifiziert, muss das Nutzen-Risiko-Verhältnis des Arzneimittels danach neu bewertet sowie eine Strategie zur Risikominimierung dargelegt werden. Auch sollten Pläne oder Daten zu Bestätigungstests gemäß Schritt 2 vorgelegt werden.

„Comply if tested: Eine hervorragende Lösung, gerade auch für die Sartane.“

Frage 15 eröffnet eine neue, interessante Möglichkeit zur Testung von Nitrosaminen. Wenn der Herstellungsprozess des Wirkstoffs als Ursprung der Nitrosamin-Verunreinigung identifiziert wird, können die Kontrolloptionen der ICH M7 genutzt werden, um nachzuweisen, dass die Verunreinigung im Fertigarzneimittel stets unterhalb des Grenzwertes liegt. Es muss dann ein Grenzwert in die Spezifikation des Fertigarzneimittels aufgenommen werden. Die getesteten Chargen sollten diesem entsprechen („Comply if tested“). Die Frequenz der Testung legt der MAH selbst fest. Anders ist das dagegen beim Skip Testing, wo eine definierte Frequenz bei der Behörde eingereicht werden muss.

Wichtige Links:

Lessons learned HMA/EMA: https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/lessons-learned-presence-n-nitrosamine-impurities-sartan-medicines_en.pdf

Q&A-Papier der EMA: https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/nitrosamines-emea-h-a53-1490-questions-answers-marketing-authorisation-holders/applicants-chmp-opinion-article-53-regulation-ec-no-726/2004-referral-nitrosamine-impurities-human-medicinal-products_en.pdf

HMA/CMDh: Information on Nitrosamines for MAHs: <https://www.hma.eu/620.html>

Impurities – Strategien zur Kontrolle in Entwicklung, Produktion und Supply Chain

Dr. Michael Finkam, CMC Project Lead bei Grünenthal, stellte Hauptquellen von Verunreinigungen in Arzneimitteln vor, zeigte Strategien zur Kontrolle sowie ein mögliches Life Cycle Management von Verunreinigungen.

Quellen von Verunreinigungen sind:

- Synthese-Nebenprodukte
- Zersetzungsprodukte
- Reagenzien und Chemikalien
- Intermediate
- Metallrückstände
- Hilfsstoffe
- Wechselwirkung mit Verpackung oder Applikationsmaterialien

Die **Wirkstoffherstellung** ist eine der Hauptquellen. Die Kenntnis über Synthesenebenprodukte und Zersetzungsprodukte ist relevant für die Entwicklung der Analytik.

Während der präklinischen Entwicklung und den drei Phasen der klinischen Prüfung läuft das „**Impurity Profiling**“. Spezifikationen müssen für den Zulassungsantrag festgelegt werden. Aber z. B. in Phase III der klinischen Prüfung wird deutlich mehr Wirkstoff benötigt (mehrere 100 Kilo pro Jahr). Hier kommt es oft noch zu einem Wechsel des Herstellungsverfahrens und die Bewertung der

möglichen Verunreinigungen muss neu aufgerollt werden. Zusätzlich wird die Formulierung der Arzneimittel im Laufe der Zeit noch optimiert. Dabei wird oft auch die Formulierungstechnologie gewechselt.

Die Verunreinigungen lassen sich in **drei Klassen** unterteilen: die tatsächlich aufgetretene Verunreinigung, die wissenschaftlich mögliche Verunreinigung und die hypothetische Verunreinigung (nicht wissenschaftlich naheliegend, aber theoretisch denkbar).

Als **Monitoring-Tool** eignet sich z. B. eine **Übersichtsliste**, die während der gesamten Produktentwicklung weitergeführt wird. Hilfreich ist auch ein „**Impurity Gremium**“, das interdisziplinär zusammengesetzt ist. Die technische Projektleitung übernimmt die Koordination. Teil des Gremiums sollten Qualitätssicherung/QP, analytische, chemische und pharmazeutische Entwicklung sowie die Toxikologie sein. Das Gremium legt das Verunreinigungsprofil fest sowie die Spezifikationslimits.

Die sieben Schritte des Impurity Assessments

Michael Finkam erläuterte die sieben Schritte des Impurity Assessments:

- Schritt 1: Initiale Forced Degradation Studie
 - Bestimmung der chemischen Stabilität
 - Aufklärung und Herstellung der Hauptzersetzungsprodukte
- Schritt 2: Liste der Verunreinigungen
 - Reagenzien und Chemikalien
 - Intermediate
 - Synthese-Nebenprodukte
 - Zersetzungsprodukte
- Schritt 3: Literatur und QSAR-Assessment (Die Datenbanken verknüpfen chemische Strukturen mit toxikologischen Befunden. So können mögliche Alert-Strukturen frühzeitig im Entwicklungsprozess gefunden werden.)
- Schritt 4: Klassifizierung der Verunreinigungen (ICH M7)
- Schritt 5: Bestätigung der positiven Strukturen
 - AMES-Test (falls negativ, kann die Verunreinigung nach ICH Q3A/B behandelt werden)
- Schritt 6: Quantifizierung der identifizierten mutagenen Verunreinigungen
- Schritt 7: Umsetzung der Kontrollmaßnahmen (z. B. Grenzwerte auf der Stufe des Fertigarzneimittels festlegen)

Wann ist das Assessment zu wiederholen?

Anlässe für eine wiederholte Bewertung sind:

- Auftreten von neuen Verunreinigungen oder Zersetzungsprodukten
- Wechsel oder Anpassung der Syntheseroute
- Änderung der Formulierung
- Alle 2 Jahre Re-Assessment aller Strukturen in den QSAR-Datenbanken

„Der EFPIA-Guide zur Risikobewertung der Nitrosamine bildet den Stand der Wissenschaft sehr gut ab.“

Die Bewertung des Risikos für Nitrosamin-Verunreinigungen schließt die Suche nach Nitrosamin-Prekursoren (sekundäre und tertiäre Amine, nitrosierende Agenzien) sowie eine Kritikalitätsanalyse

der einzelnen Herstellungsschritte ein. Michael Finkam empfahl den **EFPIA Guide „Workflows for Quality risk management of nitrosamine risks in medicines“**³, der wertvolle Hinweise und Hintergrundinformationen für die Bewertung und die Entwicklung einer Kontrollstrategie enthält. Insbesondere die ersten drei Guidances fassen die wichtigsten Erkenntnisse zu Quellen von nitrosierenden Agenzien, zu sekundären und tertiären Aminen sowie zu möglichen Kontaminierungsrisiken (z. B. wiederaufbereitete Materialien) zusammen. Für die Bewertung von Nitrosamin-Verunreinigungen in biologischen Arzneimitteln gibt die EFPIA ebenfalls Hinweise⁴.

„Das Konzept der Forced Degradation ist Best Practice in der Pharmaindustrie.“

„**Forced Degradation Studies**“ erzwingen den Abbau eines Wirkstoffs durch drastische chemische und physikalische Einflüsse. Mit ihnen kann die Stabilität des Wirkstoffmoleküls untersucht und Abbauprodukte identifiziert werden. Wichtig ist, dass die Studien so gestaltet sind, dass sie realistische Ergebnisse liefern und keine Artefakte. Ein allgemeines Schema für die möglichen Stressbedingungen für den Wirkstoff und das Fertigarzneimittel zeigt Abbildung 1.

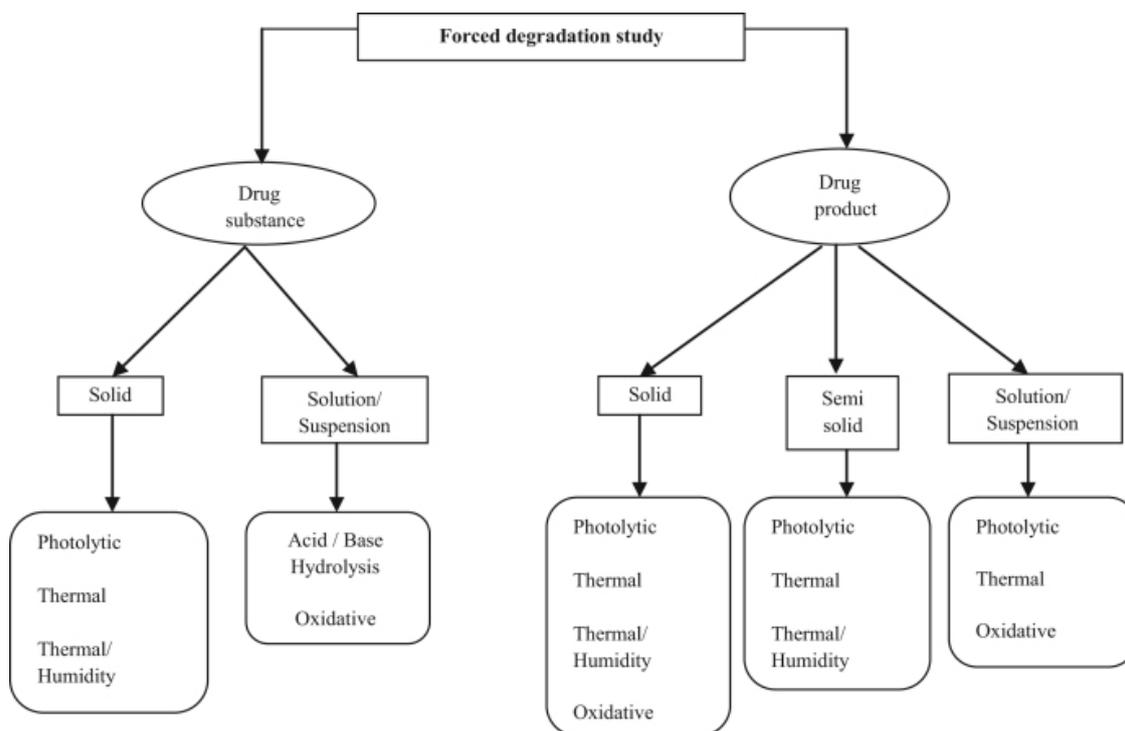


Abbildung 1 Unterschiedliche Stressbedingungen für die Zersetzung von Wirkstoff und Arzneimittel (Quelle: Blessy, M. et al.; J Pharm Analysis 2014 Jun;4(3):159-165)

Strukturaufklärung der Verunreinigungen

Herausfordernd für die Strukturaufklärung von Verunreinigungen ist, eine ausreichende Menge der

³ <https://www.efpia.eu/media/580594/workflows-for-quality-risk-management-of-nitrosamine-risks-in-medicines.pdf>

⁴ <https://www.efpia.eu/media/580595/n-nitrosamine-impurities-in-biological-medicinal-products.pdf>

Verunreinigung zu isolieren. Eine elegante analytische Methode koppelt eine HPLC (UV/MS) mit einer automatisierten Festphasenextraktion, die ein akkumulatives Trapping der Verunreinigungen ermöglicht, und einem NMR (NMR-SPE-LC).

Analytik von Verunreinigungen – Fokus Nitrosamine

„Die Analytik von Verunreinigungen ist (immer noch) eine Detektivarbeit“, führte **Dr. Ralph Nussbaum**, Auregen BioTherapeutics, in seinen Vortrag ein. Die analytischen Methoden sind unterschiedlich sensitiv. Im QC-Labor ist HPLC-MS die Standardmethode. Bei flüchtigen Verunreinigungen eignet sich die GC-MS-Kopplung. Zur Strukturaufklärung von unbekanntem Verunreinigungen wird die NMR-Technik genutzt. Die hierfür notwendige Anreicherung der Verunreinigung erfolgt zumeist mit einer chromatographischen Trennsäule. Beim NMR werden heute auch insbesondere die heteronuklearen Verfahren HSQC (heteronuclear single quantum coherence) und HMBC (heteronuclear multiple bond correlation) genutzt.

„Wenn Sie nichts finden, heißt es nicht, dass nichts drin ist.“

2007 war der Proteaseinhibitor Nelfinavir-Mesyilat (Viracept®) wegen einer Kontamination mit dem genotoxischen Ethylmethansulfonat (EMS) zurückgerufen worden. Die Verunreinigung stammte aus der Wirkstoffsynthese und betrug fast 0,1 %. EMS und Methylmethansulfonat (MMS) können mittels einer GC-MS-Methode identifiziert und quantifiziert werden.

2018 wurden mehrere Valsartan-haltige Arzneimittel zurückgerufen aufgrund einer Verunreinigung mit N-Nitrosodimethylamin (NDMA). NDMA gehört zu den potentesten karzinogenen Nitrosaminen. Zubereitungen müssen bereits ab 0,001 % gekennzeichnet werden. In untersuchten Stichproben der Arzneimittel wurden NDMA-Gehalte zwischen 3,7 und 22,0 Mikrogramm/Tablette gefunden. Ursache für die Verunreinigung war die Umstellung auf ein neues Syntheseverfahren, das Dimethylformamid (DMF) und Natriumnitrit nutzt. Diese reagieren nach Bildung des Nitrosylkations aus Natriumnitrit zu NDMA.

Aber auch andere Sartane enthielten NDMA, obwohl diese ganz anders synthetisiert werden. Ursache: Der Hersteller rezyklierte das Lösungsmittel DMF aus der Valsartan-Synthese und hat es für andere Synthesen eingesetzt.

Konsequenzen aus dem Valsartan-Fall

Aufgrund der Produktrückrufe kam es zu Lieferengpässen bei Sartan-haltigen Arzneimitteln. Jede Charge aller betroffenen Produkte musste auf Nitrosamine getestet werden. Die Analysemethoden mussten produktspezifisch validiert werden. Das EDQM zog das für Valsartan erteilte CEP des betroffenen Herstellers zurück.

Die Ph. Eur.-Monographien der betroffenen Sartane wurden 2019 aktualisiert und Grenzwerte für NDMA und NDEA ergänzt.

Das EDQM hat verschiedene analytische Methoden entwickelt und publiziert. Überwiegend sind diese allerdings gekoppelte chromatographische Techniken, wie GC-MS und HPLC-MS, die oft nicht in QK-Routinelabors vorhanden sind.

Die niedrigen Grenzwerte der Nitrosamine sind analytisch herausfordernd.

Der EMA-Assessment Report zu dem Nitrosamin-Artikel 5(3)-Verfahren legt Grenzwerte für die acht häufigsten Nitrosamine fest und verweist auf gekoppelte Analysentechniken und Probenvorbereitung (z. B. Festphasenextraktion). Die sehr niedrigen Grenzwerte sind eine Herausforderung für die Analytik. Problematisch sind die Nachweisgrenzen. Die Grenzwerte, die Tagesdosis und die Flüchtigkeit der Nitrosamine bestimmen die Auswahl der Methode. Bei komplexen Matrices (wie Tabletten) kann mit der Stabilisotopen-Verdünnungsanalyse gearbeitet

werden, die im MS die Empfindlichkeit erhöht und die Wiederfindung verbessert.

Dokumentation

Dr. Hiltrud Horn, HORN Pharmaceutical Consulting, beleuchtete, was Wirkstoffhersteller und Lieferanten von Hilfsstoffen berücksichtigen sollten, wie der Arzneimittelhersteller die Anforderungen effizient umsetzen kann und was für die USA relevant ist.

Grundsätzlich sollte bei Lieferanten sichergestellt sein, dass sie die neuesten Regelungen zu Nitrosaminen kennen und dass der Informationsfluss klappt. Ergebnisse früherer Inspektionen geben Hinweise auf die GMP-Compliance (z. B. via EudraGMDP-Datenbank oder U.S. FDA-483, Warning Letter). Eine regelmäßige Auditierung der Lieferanten ist sinnvoll.

Was ist zu beachten bei Wirkstoffherstellern?

Wirkstoffhersteller sollten dem MAH Informationen zu möglicher Nitrosaminbildung, zur Möglichkeit von Kreuzkontaminationen sowie eine Risikobewertung vorlegen können. Neben dem Herstellungsprozess selbst sind z. B. Kontaminationsquellen wie Ausgangsstoffe, Zwischenprodukte, Reagenzien und Lösungsmittel zu bewerten. Auch spielen Wasserqualitäten, das Vorhandensein von Stickstoffoxiden sowie die Primärverpackung eine Rolle.

In der Praxis unterstützen können die Fragebögen der APIC für Wirkstoffhersteller und die der IPEC für Hilfsstofflieferanten. Die EFPIA hat einen „Decision Tree“ für das „Drug Substance Manufacturing Process Risk Assessment for Presence of N-Nitrosamines“ veröffentlicht⁵.

In der Risikobewertung sollte deutlich werden, welche Informationen zum Zeitpunkt der Erstellung vorlagen.

Wenn der Lieferant keine Informationen übersendet, kann der MAH in Schritt 1 der Nitrosaminbewertung angeben, dass ein Risiko für eine Nitrosamin-Verunreinigung besteht. Aber dann muss zwingend auch der Schritt 2 „Bestätigungstest“ durchgeführt werden. **„Sobald Sie auf den Zug „Risiko“ gesprungen sind, fahren Sie weiter zur nächsten Station „Testen““**, warnt Hiltrud Horn. Das etwaige spätere Einreichen von Informationen des Lieferanten ist dann nicht mehr ausreichend. Besser ist es, selbst nach wissenschaftlichen Erkenntnissen in der Literatur zu recherchieren (z. B. zum Syntheseweg) und auch andere Informationsquellen zu nutzen (Website, Auditbericht etc.).

Was ist zu beachten bei Lieferanten von Hilfsstoffen oder Packmitteln?

Nitrate und Nitrite sind in vielen Hilfsstoffen in Spuren enthalten. Riskante Hilfsstoffe sind z. B.:

- Natriumstärkeglykonat
- Croscarmellose-Natrium
- vorgelatinierte Stärke
- Polyvinylpyrrolidon (PVP), Kreuzpolyvinylpyrrolidon (cPVP)
- Laktose

⁵ APIC Template for report on the risk of potential presence of nitrosamine impurities: <https://www.apic.cefic.org/publications.html>

IPEC Questionnaire for Excipient Nitrosamines Risk Evaluation: <https://www.ipec-europe.org/articles/questionnaire-for-excipient-nitrosamines-risk-evaluation.html>

EFPIA Decision Tree: <https://www.efpia.eu/media/580594/workflows-for-quality-risk-management-of-nitrosamine-risks-in-medicines.pdf>

NDMA/NDEA können auch während des **Druckens von Deckelfolie** gebildet werden. Die stickstoffhaltige Deckelfolie mit Nitrocellulose-Druckprimer reagiert mit Aminen in der Druckfarbe und erzeugt Nitrosamine. Diese werden während der Verblisterung (Heißversiegelung) auf das Produkt übertragen.

Wie kann der MAH die Anforderungen effizient umsetzen?

Der MAH ist verantwortlich für die Bewertung der potentiellen Nitrosamin-Verunreinigungen in seinen Arzneimitteln. Dabei ist das von der EMA geforderte dreistufige Verfahren anzuwenden (s. Abschnitt „regulatorisches Update“). Gegenüber den Behörden muss jeweils bestätigt werden, dass eine Risikobewertung (Schritt 1) bzw. Bestätigungstests (Schritt 2) durchgeführt worden sind. Die zugehörige Dokumentation wird nicht mitgesendet, sondern kann den Behörden auf Nachfrage vorgezeigt werden.

Was ist relevant für die USA?

Die Guidelines der U.S. FDA werden in der Regel zunächst als Entwurf zur Kommentierung veröffentlicht. Die Guidance „Control of Nitrosamine Impurities in Human Drugs“ dagegen wurde im September 2020 direkt in der finalen Version veröffentlicht und galt unmittelbar⁶.

Im Gegensatz zu den europäischen Anforderungen gilt die FDA-Guidance nicht für biologische Arzneimittel. Auch differieren die zulässigen Grenzwerte für Nitrosamine. Reprocessing/Rework zur „Abreicherung“ der Nitrosamine ist gemäß FDA möglich. In der EU wäre dies schwer zu begründen und ist auch nicht Bestandteil des Zulassungsdossiers, so dass das Verfahren nicht registriert werden könnte.

Die **Deadlines** für die Einreichung der Nitrosamin-Bewertungen waren für Schritt 1 in der EU der 31. März 2021 und der 1. Juli 2021 (für biologische Arzneimittel), in den USA war es der 1. März 2021. Für die Übersendung etwaiger Änderungen der Zulassung (Schritt 3) sind die Deadlines der EU der 26. September 2022 und der 1. Juli 2023 (für biologische Arzneimittel) und die der USA der 1. September 2023.

Behördenaktivitäten zur Vermeidung von Nitrosaminen in Arzneimitteln

Dr. Franz Schönfeld, GMP-Inspektor bei der Regierung von Oberfranken, stellte die Aktivitäten und Erwartungen seiner bayerischen Überwachungsbehörde zum Thema Nitrosamine vor.

Er berichtete von dem allerersten „Nitrosamin-Fall“ im Juni 2018 in Deutschland, von dem ein in Nordbayern ansässiger Pharmazeutischer Unternehmer betroffen war. In ständigem Austausch mit dem BfArM und der EMA wurden europäische und internationale Maßnahmen abgesprochen und empfohlen (Sperrung der betroffenen Chargen des Fertigarzneimittels). Parallel liefen analytische Untersuchungen und toxikologische Bewertungen. Die Verunreinigung wurde als N-Nitrosodimethylamin (NDMA) identifiziert. Anfang Juli 2018 wurden europaweit alle Fertigarzneimittelchargen mit dem Wirkstoff Valsartan, der von Zhejiang Huahai Pharmaceuticals in China hergestellt worden war, zurückgerufen. Der chinesische Wirkstoffhersteller war in 160 Zulassungen als Hersteller angeführt.

„Die Kunst bei der chemischen Synthese ist die Isolierung des Wirkstoffs.“

NDMA entsteht bei der Synthese von Valsartan aus den zugegebenen Reagenzien DMF und Natriumnitrit bei sauren pH-Werten. Zur Zerstörung des überschüssigen Natriumazids (notwendig für

⁶ <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/control-nitrosamine-impurities-human-drugs>

die Synthese des Tetrazolrings) wird Natriumnitrit zugegeben („Quenching“). Das Nitrit reagiert mit sekundären Aminen (wie DMF) zu Nitrosaminen. Um das Valsartan möglichst Nitrosamin-frei zu isolieren, wird die unterschiedliche Polarität der einzelnen Inhaltsstoffe ausgenutzt. Nach Zugabe von Wasser und MTBE (Methyl-tert-butylether) entstehen zwei Phasen. Die unpolare Phase mit MTBE und Valsartan befindet sich oben. Die polare Phase mit DMF und Wasser ist unten. Hier ist es wichtig, dass auf eine saubere Phasentrennung geachtet wird (keine Emulsion!).

Die Überwachungsbehörden erwarten, dass der Arzneimittelhersteller eine **strukturierte und fundierte Risikoidentifizierung und -analyse** durchführt. Als Tools können Ursache-Wirkungs-Diagramme und Fehlerbaumanalysen genutzt werden. Eine Risikoanalyse kann z. B. mittels FMEA durchgeführt werden. Es geht darum, das anfängliche Risiko zu bewerten. Wie verändert sich die Bewertung, wenn risikominimierende Maßnahmen getroffen werden? Aber solange das mögliche Risiko nicht bestimmt ist, muss vom Worst Case ausgegangen werden.

Die Auftrittswahrscheinlichkeit einer Nitrosamin-Verunreinigung ist nur via Änderung des Herstellungsprozesses zu senken. Die Entdeckungswahrscheinlichkeit erhöht sich erst, wenn eine ausreichend empfindliche und validierte Analysenmethode entwickelt ist.

Gutes Mittel: Chargensperrung

Eine geeignete, vorläufige Maßnahme bei der Identifizierung eines möglichen Risikos ist eine Chargensperrung. Diese ist eine firmeninterne Maßnahme, die nicht nach außen dringt und zusätzlich reversibel ist. Die Sperrung kann wieder aufgehoben werden, falls die weiteren Daten und Bewertungen das Risiko nicht bestätigen.

Die Maßnahmen zur Risikokontrolle müssen mit den Behörden abgestimmt werden (über den Stufenplanbeauftragten). Die Risikokontrolle muss jeweils angepasst werden, wenn neue Daten/Erkenntnisse vorliegen.

Typische Fehler

„Die **Lieferantenqualifizierung von Wirkstoffherstellern** wird oft nur oberflächlich durchgeführt bzw. Auditberichte von schlechter Qualität eingekauft“, beklagt Franz Schönfeld. Der Arzneimittelhersteller ist aber verpflichtet, über detaillierte Informationen zum Herstellungsprozess des Wirkstoffs zu verfügen und seinen Wirkstoffhersteller zu qualifizieren und regelmäßig zu auditieren. Dies hat auch das EDQM im Jahr 2018 nochmals betont. In der Praxis kann eigentlich nur Wirkstoff von solchen Herstellern bezogen werden, die ihr Herstellungsverfahren gegenüber ihren Kunden offenlegen und einen guten Informationsaustausch pflegen.

Je mehr Arzneimittelhersteller sich die Wirkstoffsynthesen tatsächlich im Detail vor Ort ansehen, desto besser werden die Herstellungsverfahren.

Auch die **Berichte zur analytischen Methodvalidierung** sollte sich der Arzneimittelhersteller näher ansehen. Nachweis- und Bestimmungsgrenze können falsch berechnet worden sein (z. B. falsche Bereiche beim Signal-Rausch-Verhältnis gewählt, um geschönte Zahlen zu bekommen).

Die Methode kann auf dem Papier validiert sein, aber z. B. die Wiederfindungsrate ist trotzdem nicht bestimmt worden. Diese ist aber relevant, da eine zu niedrige Wiederfindungsrate auch falsch niedrige Nitrosaminwerte vortäuschen kann. Ein Wechsel des Extraktionsmittels kann z. B. 25 % ausmachen bei der Wiederfindung und somit auch beim Analysenergebnis.

Zusammenfassung:

Nitrosamine sind ein facettenreiches Thema, das alle Pharmazeutischen Unternehmer nicht nur heute, sondern auch in Zukunft weiter begleiten wird.

Nitrosamin-Verunreinigungen in Arzneimitteln können verschiedene Ursachen haben. Am häufigsten werden Nitrosamine über die Wirkstoffsynthese eingebracht. Mögliche Ursachen sind aber auch z. B. rückgewonnene Lösungsmittel, Abbauprodukte oder Verpackungsmaterialien mit Nitrocellulose.

Die Leitlinien des Ausschusses für Humanarzneimittel (CHMP) sehen für alle (Human-)Fertigarzneimittel ein dreistufiges Bewertungsverfahren vor. Im ersten Schritt wird eine Risikobewertung durchgeführt. Wenn in Schritt 1 ein Risiko der Nitrosaminbildung festgestellt wurde, muss im zweiten Schritt ein Bestätigungstest durchgeführt werden unter Verwendung von validierten und ausreichend empfindlichen Methoden. In Schritt 3 des Verfahrens erfolgt dann die Änderung der Zulassungsdokumentation.

Die Zulassungsinhaber finden in einigen Guidelines gute Hinweise für die Umsetzung in der Praxis sowie Fragebögen für Lieferanten, z. B. Q&A-Papier der EMA, EFPIA-Guide zur Risikobewertung, Fragebogen der APIC und der IPEC.

Das A und O sind Analysemethoden, die ausreichend empfindlich sein müssen, um Spuren von Nitrosamin-Verunreinigungen nachweisen und quantifizieren zu können.

Das EDQM hat verschiedene analytische Methoden entwickelt und publiziert. Überwiegend sind diese allerdings gekoppelte chromatographische Techniken, wie GC-MS und HPLC-MS, die oft nicht in QK-Routinelabors vorhanden sind.

Mit "Forced Degradation Studies" kann die Stabilität des Wirkstoffmoleküls untersucht und Abbauprodukte identifiziert werden. Herausfordernd für die Strukturaufklärung von Verunreinigungen ist, eine ausreichende Menge der Verunreinigung zu isolieren. Eine elegante analytische Methode koppelt eine HPLC (UV/MS) mit einer automatisierten Festphasenextraktion, die ein akkumulatives Trapping der Verunreinigungen ermöglicht, und einem NMR (NMR-SPE-LC).

Eine qualitativ hochwertige Lieferantenqualifizierung, inklusive Vor-Ort-Audits, ist wichtig, um das Risiko für Nitrosamin-Verunreinigungen zu minimieren. Dies hilft auch, die Herstellungsverfahren für Wirkstoffe zu verbessern.