

Onečišćenja u lijekovima

Nigović, Biljana; Sertić, Miranda

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2012, 68, 77 - 88**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:622335>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-09**



Repository / Repozitorij:

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



Onečišćenja u lijekovima

BILJANA NIGOVIĆ, MIRANDA SERTIĆ

Zavod za analitiku i kontrolu lijekova
Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

UVOD

Onečišćenja u lijekovima su neželjene tvari u aktivnoj farmaceutskoj tvari koje mogu zaostati iz proizvodnog postupka, nastati tijekom izrade ljekovitog oblika te uskladištenjem gotovog lijeka ili same djelatne tvari. Zahtjevi kakvoće lijeka definiraju prihvatljive granice za onečišćenja koja se dopuštaju u roku valjanosti lijeka.

S obzirom da su različite nacionalne farmakopeje i nacionalne agencije imale različite definicije, standarde i pravilnike o onečišćenjima u lijekovima, organizirana je Međunarodna konferencija o harmonizaciji (*International Conference on Harmonization*, ICH), zajednička inicijativa regulatornih tijela i proizvođača lijekova s područja Europske unije, Sjedinjenih Američkih Država i Japana, radi usklađivanja standarda i zakonske regulative na području triju regija zbog bržeg stavljanja lijekova u promet uz očuvanje dobrobiti pacijenata.

Onečišćenje je, prema smjernicama (ICH), svaki sastojak ljekovite tvari koji nema definiran kemijski entitet kao ljekovita tvar (1) ili svaki sastojak farmaceutskog proizvoda koji nije ljekovita ili pomoćna tvar u proizvodu (2).

Budući da onečišćenja mogu imati neželjene farmakološke učinke, toksična svojstva, uzrokovati nuspojave, utjecati na aktivnost i stabilnost ljekovite tvari, bioraspoloživost i učinkovitost lijeka, kao i utjecati na rezultate analitičkih ispitivanja lijekova, zakonska regulativa donosi sve složenije zahtjeve u kontroli onečišćenja u lijekovima (3). Strogu kontrolu kakvoće lijekova mora provoditi proizvođač i regulatorna tijela radi zaštite pacijenta, jer prisutnost onečišćenja, čak i u vrlo malim količinama, može utjecati na djelotvornost i sigurnost primjene lijeka.

Vrste onečišćenja

Prema ICH smjernicama, onečišćenja se mogu podijeliti u tri skupine: organska onečišćenja, anorganska onečišćenja i ostatna otapala. Osim ove tri skupine, ICH razmatra izradu i četvrtog dokumenta koji bi davao posebne smjernice za onečišćenja metalima (4).

Organska onečišćenja mogu nastati tijekom proizvodnog procesa i/ili pri skladištenju lijekovite tvari ili gotovog lijeka. Mogu biti identificirana ili neidentificirana, hlapljiva ili nehlapljiva, a uključuju početne sirovine, nusprodukte, međuprodukte i razgradne produkte. Iako rijetko, kao organska se onečišćenja u lijeku mogu naći i reagensi, ligandi i katalizatori te uzrokovati brojne poteškoće pa proizvođači moraju poduzeti odgovarajuće mjere opreza.

Anorganska onečišćenja uglavnom zaostaju iz proizvodnog procesa. Najčešće su poznata i identificirana, a obuhvaćaju anorganske katalizatore, reagens i ligande, anorganske soli i ostale tvorevine poput drvenog ugljena i tvari koje se rabe za filtraciju, poput dijatomejske zemlje, silika gela, celuloze te teške metale i druge zaostale metale. Izvor teških metala može biti i voda koja se rabi u proizvodnom procesu te reaktori od nehrđajućeg čelika kada se provodi zakiseljavanje smjese ili kisela hidroliza (5).

Ostatna otapala su zaostale, hlapljive organske kemijske tvari koje se rabe ili nastaju u postupku proizvodnje lijeka. ICH smjernice propisuju granice za otapala koja mogu zaostati u lijekovitim i pomoćnim tvarima nakon proizvodnje, a one ovise o toksičnosti otapala, načinu primjene i dozama lijeka (6). Ovisno o potencijalnom riziku za ljudsko zdravlje, ostatna otapala su podijeljena u tri skupine. Prva skupina ostatnih otapala obuhvaća otapala koja se moraju izbjegavati zbog dokazane karcinogenosti ili snažne sumnje na karcinogenost u ljudi te otapala opasna za okoliš. Druga skupina su otapala čija upotreba treba biti ograničena zbog moguće neurotoksičnosti, teratogenosti i drugih tipova toksičnosti. Treća skupina ostatnih otapala su otapala niske toksičnosti i malog rizika za zdravlje ljudi. Prema ICH smjernicama, postoji i četvrta skupina ostatnih otapala o čijoj toksičnosti za sada nema dovoljno podataka, međutim proizvođači trebaju priložiti obrazloženje o pronađenim količinama tih ostatnih otapala u proizvodu.

Vrlo česta onečišćenja aktivne farmaceutske tvari, na koja se posebno pazi pri proizvodnji lijeka i gotovog proizvoda, su kristalizacijska onečišćenja. Budući da svojstva lijeka ovise o njegovom kristalnom obliku, farmaceutska industrija mora provoditi strogu kontrolu polimorfnih oblika. Polimorfizam je pojava iste čvrste tvari u više različitih kristalnih oblika, pa polimorfi imaju isti kemijski sastav, ali različitu molekulsku konformaciju i različit raspored molekula unutar kristala. Stoga polimorfi imaju različita fizikalna svojstva, primjerice topljivost, tvrdoću, higroskopnost, indeks loma svjetlosti, entalpiju, točku taljenja, stabilnost, ali i brzinu oslobađanja lijekovite tvari iz pripravka i bioraspoloživost. Pseudopolimorfe karakterizira različita kristalna struktura zbog inkluzije jedne ili više molekula otapala ili vode, a također mogu imati različitu topljivost, stabilnost i bioraspoloživost.

Kontrola stereokemijskih onečišćenja u lijekovima također postaje vrlo značajna u kontroli kakvoće lijekova. Ljudski organizam je kiralna sredina i u takvim uvjetima enantiomeri i/ili stereoisomeri mogu i imaju različitu selektivnost za receptore, enzime

i proteine u procesima prijenosa i metabolizma pa time i različite kemijske i farmakološke učinke te potencijalnu toksičnost (7). Neki izvori navode da je na tržištu približno 50% lijekova u čistoj enantiomernoj formi (8). No, sve je veća težnja za proizvodnjom enantiomerno čistog spoja koji se smatra boljim kemijskim entitetom, iako postoje slučajevi gdje je farmakokinetika S- i R-izomera jednaka pa ne postoji prednost primjene određenog enantiomernog oblika.

Onečišćenja mikroorganizmima u farmaceutskim tvarima dokazuju se prema farmakopejskim propisima, ispitivanjem sterilnosti. Ona mogu potjecati od bakterija, gljivica i plijesni koje se razvijaju u vlažnom i toplom okruženju, čime gotov lijek postaje neprihvatljiv za ljudsku upotrebu. Do razvoja mikroorganizama može doći zbog polupropusne membrane unutarnjeg spremnika ili primjene neodgovarajućeg konzervansa u dozirnim oblicima (9).

Podrijetlo onečišćenja

Onečišćenja se u ljekovitu tvar mogu unijeti polaznim sirovinama, a mogu nastati kao međuprodukti ili nusprodukti u složenom proizvodnom postupku ljekovite tvari. Često ih se naziva procesnim onečišćenjima. Zatim, onečišćenja su produkti razgradnje ljekovite tvari djelovanjem svjetla, temperature, prisutnosti vode ili promjenom pH, a mogu nastati i tijekom izrade ili čuvanja farmaceutskog dozirnog oblika. Produkti reakcija između ljekovite tvari s pomoćnim tvarima ili primarnog spremnika i ljekovite tvari te produkti interakcije djelatnih tvari u višekomponentnim dozirnim oblicima također se smatraju onečišćenjima (3). Ako su u izradi lijeka upotrijebljeni prirodni produkti, onečišćenja mogu biti i usput ekstrahirane tvari.

Ostaci polaznih sirovina koji nisu u potpunosti reagirali u postupku sinteze ljekovitih tvari česta su vrsta onečišćenja u lijekovima. Kao polazna sirovina za sintezu paracetamola može se upotrijebiti p-aminofenol pa ga se može naći kao onečišćenje u tom lijeku. U vrlo složenim stupnjevima sinteze ljekovitih tvari mogu se kao onečišćenja naći ostaci neizreagiranih međuprodukata ili nastalih nusprodukata. Acetiliranjem p-aminofenola nastaje paracetamol, no u toj reakciji nastaje diacetilirani paracetamol kao nusprodukt te se pojavljuje kao moguće onečišćenje (5).

U ljekovitom obliku onečišćenja mogu potjecati iz pomoćnih tvari, što će uvjetovati i razlike između pojedinih proizvodnih serija, ovisno o dobavljaču i kvaliteti upotrijebljenih pomoćnih tvari.

Onečišćenje može nastati u proizvodnom procesu ljekovitog oblika. Tijekom proizvodnje injekcija diklofenaknatrija pri sterilizaciji u autoklavu nastaje poznato organsko onečišćenje 1-(2,6-diklorfenil)indolin-2-on (10). Uvjeti sterilizacije i pH vrijednost otopine izazivaju intramolekulska ciklička reakciju u molekuli diklofenaknatrija pri čemu nastaje derivat indolinona i natrijev hidroksid.

Onečišćenja mogu nastati uslijed interakcija djelatnih tvari tijekom stajanja lijeka pod utjecajem vanjskih čimbenika. Primjerice, u tekućem dozirnom obliku vitamina

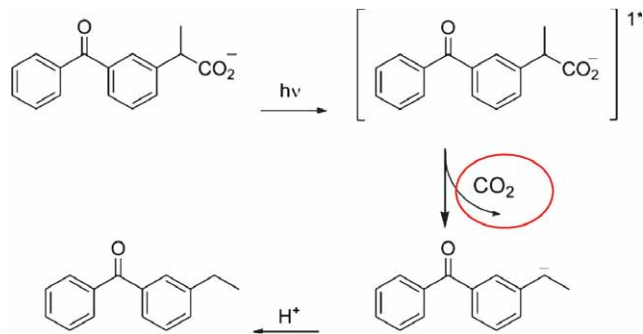
B skupine, osobito u kombinaciji nikotinamida (B3), piridoksamina (B6), riboflavina (B2) i tiamina (B1), tijekom vremena dolazi do razgradnje vitamina (11). Nastali produkti nisu toksični, pa ne predstavljaju opasnost, no uskladištenjem tih pripravaka u vedrogerijama, a zatim u ljekarni, već nakon godinu dana koncentracije vitamina su ispod razina terapijske učinkovitosti. Taj je proces ubrzan pri visokoj temperaturi, pa područja s tropskom ili umjerenom klimom tijekom ljeta moraju voditi računa o skladištenju tih proizvoda da bi se očuvala njihova kvaliteta. Općenito su tekući dozirni oblici podložniji nastajanju onečišćenja interakcijama sastavnica farmaceutskog oblika međusobno, hidrolizi lijekovite tvari i mikrobiološkoj kontaminaciji. Kod takvih ljekovitih oblika velika pozornost se pridaje kontroli pH, kompatibilnosti aniona i kationa koji ulaze u sastav ljekovitih i pomoćnih tvari te interakcijama s primarnim spremnikom (12).

Osim vanjskih čimbenika, poput temperature, svjetlosti i vlage, koji pri izradi ljekovitog oblika ili njegovim stajanja mogu uzrokovati nastajanje onečišćenja, ona mogu biti i posljedica i karakteristične razgradnje funkcionalnih skupina u molekuli lijeka (13). Acetilsalicilatna kiselina je primjer lijeka u kojem dolazi do hidrolize estera, pri čemu nastaje onečišćenje salicilatnom kiselinom. Osim u acetilsalicilatnoj kiselini, hidroliza se događa i u lijekovima poput penicilinskih i cefalosporinskih antibiotika, barbitala, benzokaina, kloramfenikola, klordiazepina, linkomicina i oksazepama.

Oksidativna razgradnja uzrokuje nastanak onečišćenja u lijekovima poput hidrokortizona, metotreksata, u lijekovima s hidroksilnom skupinom izravno vezanom na aromatsku jezgru (npr. morfin, kateholamin), s heterocikličkim aromatskim prstenom, u lijekovima s konjugiranom dvostrukom vezom (poput A vitamina i nezasićenih masnih kiselina), u nitritima, nitrozo derivatima i aldehidima. (5).

Fotolitičko cijepanje molekule lijeka događa se pri izlaganju svjetlosti tijekom proizvodnje lijeka, pakiranja ili skladištenja. Fotokemijska energija uzrokuje stvaranje slobodnih radikala što pokreće lančane reakcije. Većina tvari je u obliku otopine iznimno osjetljiva na izlaganje visoko energetsom UV zračenju., primjerice ciprofloksacin i drugi fluorokinolonski antibiotici (14). Također je zapaženo da nakon 42 sata izravnog izlaganja sunčevoj svjetlosti injekcija ergometrina, alkaloida koji se često rabi za sprječavanje krvarenja maternice nakon porođaja, dolazi do potpune razgradnje ljekovite tvari. Da bi se to izbjeglo, gotovi je lijek potrebno zaštititi od svjetlosti upotrebom tamne ambalaže ili umatanjem u aluminijske folije (15). Poznat je i primjer nifedipina, koji se razgrađuje do dehidronifedipina, a pod utjecajem UV svjetlosti nastaje nitrozo analog dehidronifedipina. Nastala onečišćenja nemaju nikakav terapijski učinak (16).

Dekarboksilacija se događa s lijekovima koji su karboksilne kiseline, poput p-aminosalicilne kiseline, rufloksacina ili ketoprofena čiji je mehanizam razgradnje uzrokovan djelovanjem svjetlosti prikazan na slici 1. (17).



Slika 1. Mehanizam razgradnje ketoprofena djelovanjem svjetlosti

Profil čistoće lijeka

Ispitivanje profila čistoće (*impurity profiling*) lijeka obuhvaća analitičke postupke kojima je cilj detekcija, identifikacija, strukturna karakterizacija i kvantitativno određivanje organskih i anorganskih onečišćenja, kao i ostalih otapala, u ljekovitoj tvari i farmaceutskom pripravku. Tim se postupkom precizno određuje kvaliteta i stabilnost ljekovite tvari i gotovog farmaceutskog proizvoda pa se ispitivanje profila čistoće smatra ključnim dijelom analize lijeka. U skladu sa sve većim zahtjevima u kontroli kakvoće lijeka i određivanju njegovih onečišćenja, razvijaju se nove analitičke metode da bi zadovoljile potrebe regulatornih tijela i industrije, a bolesnici opskrbili kvalitetnim, sigurnim i djelotvornim lijekovima.

Dva su osnovna ICH dokumenta koja se bave onečišćenjima u novoj ljekovitoj tvari (1) i novom farmaceutskom proizvodu (2). Prvi dokument daje smjernice za kontrolu onečišćenja u novoj ljekovitoj tvari proizvedenoj sintetskim putem. Smjernice nije potrebno primjenjivati na nove ljekovite tvari u fazi kliničkih istraživanja. Definirani pragovi za prisutna onečišćenja tim dokumentom ne odnose se na ljekovite tvari dobivene biološkim ili biotehnološkim putem, peptide, oligonukleotide, radiofarmaceutike, fermentacijske i polusintetske proizvode, biljne proizvode te proizvode iz biljnih i životinjskih izvora (1).

ICH dokument Q3B(R2) donosi smjernice za kontrolu onečišćenja u novim ljekovitim proizvodima koji sadrže novu ljekovitu tvar dobivenu kemijskom sintezom. Smjernice se promatraju zajedno s onima iz dokumenta ICH Q3A(R2), a po potrebi i iz dokumenta o ostatnim otapalima ICH Q3C(R5). Tim su dokumentom obuhvaćena samo onečišćenja u novom ljekovitom proizvodu koja su klasificirana kao razgradni produkti ljekovite tvari ili produkti nastali reakcijom ljekovite tvari s pomoćnim tvarima i/ili primarnim spremnikom. Ne obuhvaća onečišćenja koja potječu izravno iz pomoćnih tvari i/ili primarnog spremnika, vanjska onečišćenja koja se ne bi trebala naći u novom ljekovitom obliku u skladu s Dobrom proizvođačkom praksom (*Good Manufacturing Practice; GMP*), polimorfne oblike i enantiomerna onečišćenja, koja su obuhvaćena drugim ICH dokumentima, primjerice Q6A (18).

ICH smjernice problem onečišćenja razmatraju na dva načina. Kemijski dio obuhvaća identifikaciju onečišćenja, izradu izvještaja, postavljanje zahtjeva i ograničavanje količine onečišćenja te daje osvrt na analitičke metode kojima se ona kontroliraju. Drugi dio o procjeni biološke sigurnosti obuhvaća smjernice za onečišćenja koja se nalaze u većoj količini od one koja je propisana za ispitivanje sigurnosti primjene lijeka.

ICH smjernice postavljaju pragove (*threshold limits*) ispod kojih nije potrebno izvještavanje o prisutnim onečišćenjima (prag izvještavanja), strukturna karakterizacija onečišćenja (prag identifikacije) ili procjena biološke sigurnosti onečišćenja (prag kvalifikacije). Propisani pragovi ovise o maksimalnoj dnevnoj dozi lijeka i prikazani su u tablici 1. Maksimalna dnevna doza je količina ljekovite tvari koja se unese u organizam u jednom danu. Pragovi izvještavanja o prisutnim onečišćenjima odnose se na razinu iznad koje je potrebno priložiti izjavu o onečišćenjima, a koja uključuje njihov točan postotak u lijeku i metodu analize kojom su određeni. Ako je dnevna doza 2 g ili manja potrebno je u izjavi navesti svako onečišćenje koje se pojavljuje u količini većoj od 0,05 %. Za doze veće od 2 g navode se sva onečišćenja prisutna u količini većoj od 0,03 %. Karakterizacija kemijske strukture potrebna je za svako onečišćenje prisutno u količini većoj od 0,1% za dnevnu dozu ljekovite tvari 2 g i manju, dok je za doze veće od 2 g potrebna strukturna karakterizacija za onečišćenja prisutna već od 0,05%. Kvalifikacija onečišćenja je proces prikupljanja i procjene podataka koji utvrđuju biološku sigurnost pojedinog onečišćenja. Ako onečišćenje ima farmakološki učinak ili je toksično, moguće je postaviti niže pragove izvještavanja, identifikacije i kvalifikacije, dok je za viši prag izvještavanja potrebno priložiti odgovarajući znanstveni dokaz koji to opravdava.

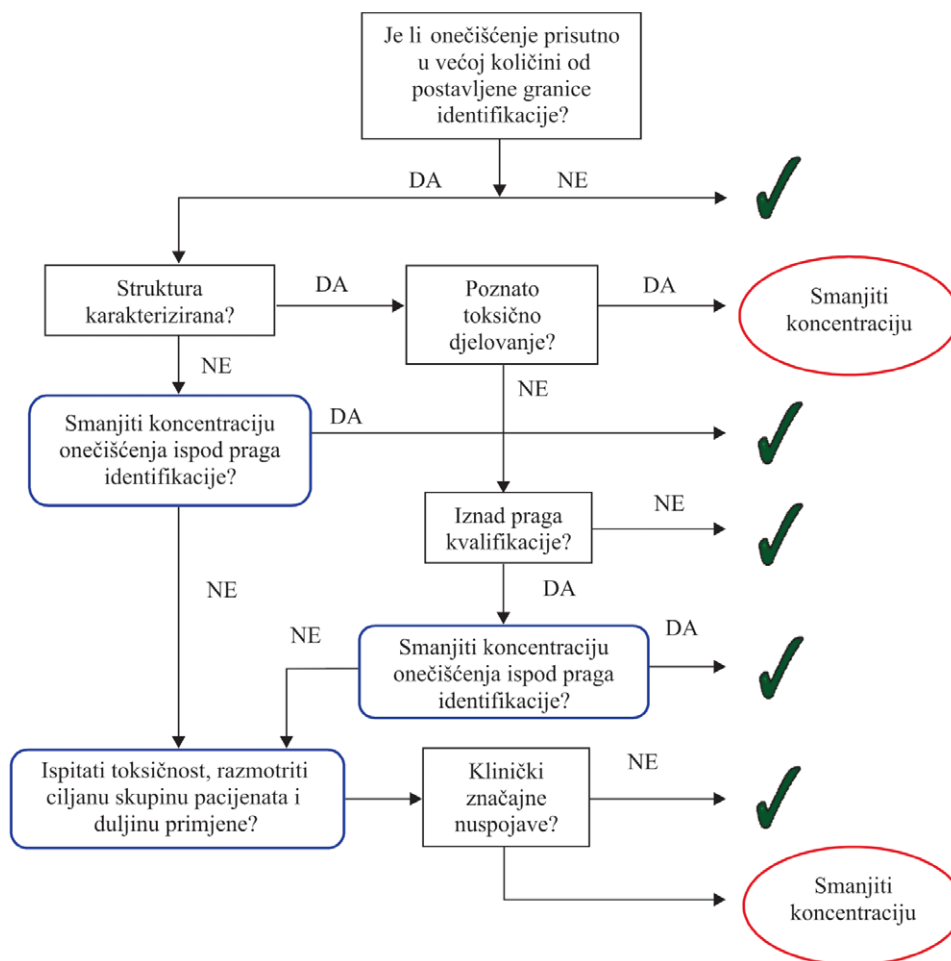
Tablica 1. Propisani pragovi izvještavanja, identifikacije i kvalifikacije za onečišćenja u novoj ljekovitoj tvari

| Maksimalna dnevna doza | Prag izvještavanja | Prag identifikacije | Prag kvalifikacije |
|------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| = 2 g | 0,05 % | 0,10 % ili 1,0 mg/dan unosa | 0,15 % ili 1,0 mg/dan unosa |
| > 2 g | 0,03 % | 0,05 % | 0,05 % |

Propisani pragovi izvještavanja, identifikacije i kvalifikacije za razgradne produkte u novom ljekovitom proizvodu prikazane su u tablici 2. Pragovi za razgradne produkte izraženi su ili kao postotak ljekovite tvari ili kao ukupni dnevni unos (*total daily intake*, TDI) razgradnog produkta. Za toksične razgradne produkte pragovi su niži, dok viši pragovi moraju biti znanstveno opravdani. ICH smjernice daju »stablo odluke« (*decision tree*) o identifikaciji i kvalifikaciji onečišćenja prisutnih u aktivnoj farmaceutskoj tvari koji razmatra postupke koje treba poduzeti ako su prijedene vrijednosti praga identifikacije i kvalifikacije (slika 2.).

Tablica 2. Pragovi izvještavanja, identifikacije i kvalifikacije za razgradne produkte u novom lijekovitom proizvodu

| Maksimalna dnevna doza | Prag izvještavanja | Prag identifikacije | Prag kvalifikacije |
|------------------------|--------------------|---------------------|----------------------|
| <1 mg | 0,1 % | 1,0 % ili 5 µg TDI | 1,0 % ili 50 µg TDI |
| 1–10 mg | 0,1 % | 0,5 % ili 20 µg TDI | 1,0 % ili 50 µg TDI |
| 10–100 mg | 0,1 % | 0,2 % ili 2 mg TDI | 0,5 % ili 200 µg TDI |
| 0,1–1 g | 0,1 % | 0,2 % ili 2 mg TDI | 0,2 % ili 3 mg TDI |
| 1–2 g | 0,05 % | 0,2 % ili 2 mg TDI | 0,2 % ili 3 mg TDI |
| >2 g | 0,05 % | 0,10 % | 0,15 % |

**Slika 2.** »Stablo odluke« za identifikaciju i kvalifikaciju onečišćenja

Kontrola onečišćenja prema ICH smjernicama mora obuhvatiti te navesti u specifikacijama lijeka svako poznato i nepoznato organsko onečišćenje, svako nepoznato organsko onečišćenje pronađeno u količini iznad postavljenog praga identifikacije strukturno karakterizirati, navesti ukupna organska onečišćenja, kojih ne smije neidentificiranih zajedno biti više od 0,5 %, zatim navesti anorganska onečišćenja kao i ostatna otapala.

Onečišćenja se u Europskoj farmakopeji još dijele na specificirana onečišćenja (*specified impurities*) i ostala onečišćenja koja se mogu dokazati (*other detectable impurities*) (19). Specificirana onečišćenja su stvarna, a mogu biti identificirana i neidentificirana. Identificirana onečišćenja imaju karakteriziranu kemijsku strukturu, dok su neidentificirana onečišćenja definirana isključivo kvalitativnim analitičkim svojstvima, poput kromatografskog vremena zadržavanja. Neidentificiranog onečišćenja smije biti najviše 0,1% za doze lijekovite tvari manje od 2 g, a iznimka su jedino lijekovite tvari koje su već dugi niz godina prisutne na tržištu pa neidentificirana onečišćenja u tim proizvodima mogu iznositi više od 0,1%. Ostala onečišćenja koja se mogu dokazati su potencijalna, nisu detektirana niti u jednom ispitivanom uzorku tijekom izrade monografije, ali su ograničena ispitivanjima u Europskoj farmakopeji, jer se zna da mogu nastati u proizvodnom postupku ili uskladištenjem, a mogu, ili ne moraju, trenutno biti prisutna u lijekovitoj tvari.

Analitičke tehnike i metode za određivanje onečišćenja

Da bi se tijekom svih faza proizvodnje i kontrole kakvoće lijeka osigurali zahtjevi koje donose ICH smjernice o onečišćenjima, potrebne su pouzdane i sofisticirane analitičke tehnike. Da bi se pojedine sastavnice smjese lijekovite tvari i njezinih onečišćenja odvojile, koriste se separacijske tehnike. Najčešće su primijenjene tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC) (20), plinska kromatografija (GC) (21), tankoslojna kromatografija (TLC), tankoslojna kromatografija visoke djelotvornosti (HPTLC) i kapilarna elektroforeza (CE) (22). Ponekad je potrebna i izolacija pojedinog onečišćenja (23). Sve navedene separacijske tehnike pored odjeljivanja, mogu se rabiti i za izolaciju. Osim njih, za izolaciju onečišćenja često se primjenjuju ekstrakcija na čvrstoj fazi (SPE) i ekstrakcija tekuće-tekuće.

Za strukturnu karakterizaciju onečišćenja upotrebljavaju se spektroskopske tehnike: masena spektrometrija (MS), nuklearna magnetska rezonantna spektrometrija (NMR), infracrvena (IR) spektrofotometrija, spektrofotometrija u bliskom infracrvenom području (NIR), Raman spektroskopija i ultraljubičasta i vidljiva (UV-Vis) spektrofotometrija (24, 25). Atomska apsorpcijska spektrometrija (AAS) rabi se za određivanje onečišćenja metalima (26).

Za postizanje što boljih rezultata i uvida u strukturu onečišćenja spektroskopske se tehnike vrlo često kombiniraju sa separacijskim, pa govorimo o spregnutim tehnikama: tekućinska kromatografija – masena spektrometrija (LC-MS i LC-MS/MS)

(27), plinska kromatografija – masena spektrometrija (GC-MS), tekućinska kromatografija – nuklearna magnetska rezonantna spektrometrija (HPLC-NMR), kapilarna elektroforeza – masena spektrometrija (CE-MS) (28).

Dio svake farmakopejske monografije su ispitivanja čistoće opisana u posebnom poglavlju (*Tests*) kojima se ograničavaju prisutna onečišćenja u lijeku (19). Provode se kao kvantitativna određivanja onečišćenja ili kao ispitivanja graničnih vrijednosti pri čemu se zahtjevi povezuju s rezultatima dobivenim analizom odgovarajućih poredbenih otopina te iz fizikalno-kemijskih mjerenja. Ispitivanja graničnih vrijednosti onečišćenja (*Limit test*) odnose se uglavnom na strane anione i katione te teške metale. Srodne tvari (*Related substances*) koje se spominju u farmakopejskoj monografiji su onečišćenja srodne strukture u ispitivanoj farmaceutskoj tvari. Najčešće je riječ o međuproduktima i nusproduktima proizvodnog postupka, razgradnim produktima ili pak usput ekstrahiranim tvarima, ako su korišteni prirodni produkti. U monografiji su navedena ograničenja razine pojedinog onečišćenja i zbroja ukupnih onečišćenja. Granice za kontrolu onečišćenja postavljene u pojedinoj monografiji lijeka donose se u skladu s načinom i dužinom primjene lijeka, te toksičnosti onečišćenja, u skladu s ICH smjernicama.

U tablici 3. navedeni su pojedini farmakopejski primjeri lijekova i njihovih onečišćenja kao i primijenjene tehnike za ispitivanje navedenog onečišćenja (19). No, osim metoda opisanih u farmakopejskim monografijama, znanstvenici diljem svijeta razvijaju i predlažu nove metode za detekciju, identifikaciju i kvantifikaciju onečišćenja u lijekovima. Naime, noviji lijekovi na tržištu još nemaju svoje monografije u farmakopeji, stoga postoji velika potreba za razvojem analitičkih metoda za identifikaciju, određivanje i karakterizaciju njihovih onečišćenja. Osim toga, i za lijekove koji već imaju monografije, poželjno je razvijati nove, jeftinije, brže, točnije i preciznije metode, s nižim granicama dokazivanja i određivanja, što je posebno važno upravo za onečišćenja, koja se u lijekovima nalaze u niskim koncentracijama.

Tablica 3. Primjeri iz farmakopejskih monografija ispitivanja nekih onečišćenja u ljekovitim tvarima

| Lijek | Onečišćenje | Tehnika |
|--------------------|--|---------|
| amfotericin B | tetraeni | UV |
| antazolinklorid | N-(2-aminoetil)-2-(benzilfenilamino)acetamid | TLC |
| bacitracin cink | bacitracin E | HPLC |
| benzilni alkohol | benzaldehyd | GC |
| betametazon | deksametazon | HPLC |
| cimetidinklorid | 3-cijano-2-metil-1-[2-[[5-metil-1H-imidazo-4-il)metil]sulfanil]etil]isotiourea | TLC |
| doksorubicinklorid | daunorubicin | HPLC |
| fenilbutazon | benzidin | HPLC |

Tablica 3. – nastavak

| Lijek | Onečišćenje | Tehnika |
|-----------------------------|--|---------|
| fenobarbital | srodne tvari | TLC |
| fenoksietanol | srodne tvari | GC |
| furosemid | 2,4-diklorbenzojeva kiselina | HPLC |
| ibuprofen | (2RS)-2-(4-butilfenil)propanska kiselina | HPLC |
| indometacin | 4-klorbenzojeva kiselina | TLC |
| ketoprofen | (3-benzoilfenil)octena kiselina | HPLC |
| lovastatin | dehidrolovastatin, mevastatin | HPLC |
| metadonklorid | difenilacetoni-tril, izometadon | GC |
| metilatropinbromid | srodne tvari | TLC |
| metoklopramid | metil-4-(acetilamino)-2-metoksibenzoat | TLC |
| metotreksat | (2,4-diaminopteridin-6-il)metanol | HPLC |
| nikotinamid | srodne tvari | TLC |
| nitrazepam | 3-amino-6-nitro-4-fenilkinolin-2(1H)-on | TLC |
| natrij (S)-laktata | aluminij | AAS |
| natrij (S)-laktata | metanol | GC |
| pilokarpinklorid | izopilokarpin | HPLC |
| piperacilin | ampicilin | HPLC |
| risperidon | 3-[2-[4-(2,4-difluorobenzoil)piperidin-1-il]etil]-2-metil-6,7,8,9-tetrahidro-4H-pirido[1,2- α]pirimidin-4-on | HPLC |
| ropivakainklorid monohidrat | R-ropivakain | CE |
| ropivakainklorid monohidrat | 2,6-dimetilalanin | HPLC |
| saharin | o-toluensulfonamid | GC |
| salicilatna kiselina | 4-hidroksibenzojeva kiselina | HPLC |
| simvastatin | lovastatin | HPLC |
| spiramicin | spiramicin dimer | HPLC |
| talk | olovo | AAS |
| temazepam | oksazepam | HPLC |
| teofilin | kafein | HPLC |
| testosteron | testosteron acetat | HPLC |
| vankomicinklorid | N-demetilvankomicin B | HPLC |
| vitamin A | anhidro-vitamin A | UV-Vis |
| vitamin A | retinol | TLC |

Impurities in pharmaceuticals

by B. Nigović, M. Sertić

Abstract

Impurities in pharmaceuticals are the unwanted chemicals that remain with the active pharmaceutical ingredient (API), or develop during formulation, or upon aging of both API and formulated products. The presence of these unwanted chemicals even in small amounts may influence the efficacy and safety of the pharmaceutical products.

According to the International Conference on Harmonization (ICH) of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, impurities are classified as organic impurities, inorganic impurities and residual solvents. Impurities can originate from several sources, such as starting materials, synthetic intermediates and by-products, degradation products arising during storage, functional group-related typical degradation, mutual interaction amongst ingredients and formulation-related impurities. Control of stereochemical purity of an API with chiral centers is also necessary. Also, polymorphic forms are sometimes considered as impurities that need to be controlled.

Impurity profiling is the common name of a group of analytical activities, the aim of which is the detection, identification/structure elucidation and quantitative determination of organic and inorganic impurities, as well as residual solvents in bulk drugs and pharmaceutical formulations. Since this is the best way to characterize the quality and stability of bulk drugs and pharmaceutical formulations, this is the core activity in modern drug analysis. Highly sophisticated analytical techniques, such as chromatographic, spectroscopic and hyphenated techniques, are inevitable tools in the detection, identification, characterization and quantification of impurities.

Literatura – References

1. International Conference on Harmonization (ICH) 2006 Impurities in new drug substances Q3A (R2)
2. International Conference on Harmonization (ICH) 2006 Impurities in new drug products Q3B (R2)
3. Nigović B. Analitika lijekova, interna skripta FBF, <http://www.pharma.unizg.hr/Odsjek-Kolegij.aspx?mhID=3&mvID=126>, datum pristupa: 3.11.2011.
4. International Conference on Harmonization (ICH) 2009 Impurities: Guideline for Metal Impurities Q3D
5. Roy J, Pharmaceutical Impurities – A Mini-Review. AAPS PharmSciTech. 2002; 3(2)
6. International Conference on Harmonization (ICH) 2011 Impurities: Guideline for residual solvents Q3C (R5)
7. Sertić M, Nigović B, Jug M. Analiza kiralnih lijekova kapilarnom elektroforezom. Farm. glas. 2010; 66(9): 467–476.
8. Hutt A J. CNS Spectrums. 2002; 7:14–22.

9. Hoq MM, Morsheda SB, Gomes DJ. Development of appropriate preservative system for liquid antacid: bacterial contaminants in antacid samples. *Bang. J. Microbiology*. 1991; 8(1):5–9.
10. Roy J, Islam M, Khan AH, Das SC, Akhteruzzaman M, Deb AK, Alam AH. Diclofenac sodium injection sterilized by autoclave and the occurrence of cyclic reaction producing a small amount of impurity. *J. Pharm. Sci.* 2001; 90:541–544.
11. Roy J, Mahmud M, Sobhan A, Akhteruzzaman M, Al-Farooque M, Ali E. Marketed vitamin B-complex injectables: stability and mutual interaction. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1994; 20(13):2157–2163.
12. Vasanti S, Sulabha S. Impurity profile – A review. *Drug Invention Today*. 2009; 1(2):81–88.
13. Bari SB, Kadam BR, Jaiswal YS, Shirkhedkar AA. Impurity profile: Significance in Active Pharmaceutical Ingredient. *Eurasian J. Anal. Chem.* 2007; 2(1):32–53.
14. Sunderland J, Tobin CM, White LO, MacGowan AP, and Hedges AJ. Ofloxacin photodegradation products possess antimicrobial activity. *Drugs*. 1999; 58 (Suppl 2):171–172.
15. Roy J, Bhuiyan K, Faruque A, Sobahan M, Al-Farooque M. Injectable ergometrine: stability and packaging for developing countries. *Indian Drugs*. 1997; 34(11):634–636.
16. Ohkubo T, Noro H, Sugawara K. High performance liquid chromatographic determination of nifedipine and a trace photodegradation product in hospital prescriptions. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1992; 10:67–70.
17. Cosa G, Photodegradation and photosensitization in pharmaceutical products: Assessing drug phototoxicity. *Pure Appl. Chem.* 2004; 76(2):263–275.
18. International Conference on Harmonization (ICH) 1999 Specifications: Test Procedures and acceptance criteria for new drug substances and new drug products: chemical substances Q6A
19. European Pharmacopoeia 6th ed., Council of Europe, Strasbourg, 2007.
20. Bianchini RM, Castellano PM, Kaufman TS. Development and validation of an HPLC method for the determination of process-related impurities in pridinol mesylate, employing experimental designs. *Anal. Chim. Acta.* 2009; 654(2):141–147.
21. Mornar A, Sertić M, Nigović B. Quality assessment of liquid pharmaceutical preparations by HSS-GC-FID. *J. Anal. Chem.* 2011 (prihvaćen za objavljivanje).
22. Nigović B, Damić M, Injac R, Kočevar Glavač N, Štrukelj B. Analysis of Atorvastatin and Related Substances by MEKC. *Chromatographia*. 2009; 69 (11–12):1299–1305.
23. Prabu SL, Suriyaprakash TNK. Impurities and its importance in pharmacy. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 2010; 3(2):66–71.
24. Ahuja S. Impurities Evaluation of Pharmaceuticals. New York: Marcel Dekker, 1998.
25. Gorog S. Identification and Determination of Impurities in Drugs. Amsterdam: Elsevier Science Publishing Company, 2000.
26. Lewen N. The use of atomic spectroscopy in the pharmaceutical industry for the determination of trace elements in pharmaceuticals. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2011; 55(4):653–661.
27. Mornar A, Damić M, Nigović B. Separation, Characterization and Quantification of Atorvastatin and Related Impurities by Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Anal. Lett.* 2010; 43(18):2859–2871.
28. Ingale SJ, Sahu CM, Paliwal RT, Vaidya S, Singhai AK. Advance approaches for the impurity profiling of pharmaceutical drugs: A review. *Int. J. Pharm. Life Sci.* 2011; 2(7-Suppl):955–962.

Primljeno 9. studenoga 2011.