



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

**LA QUÍMICO-FÍSICA AL SERVICIO DE LA
CALIDAD EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA**

Autor: JORGE PINILLA SALAMANCA

Fecha: FEBRERO 2019

Tutor: MARCO LAURENTI

1. RESUMEN

El control de calidad en la industria farmacéutica es uno de los pilares fundamentales para la correcta fabricación de los medicamentos que hay en el mercado y de los que se van a comercializar. Para lograr este objetivo, las empresas tienen a su alcance las GMP y unas guías de vital importancia en el control de calidad como son las ICH, que van a ayudar al cumplimiento de la seguridad en los controles de calidad. Esto puede verse en peligro durante cualquier proceso de fabricación con la presencia de impurezas, de las cuales las más peligrosas son las genotóxicas (GTIs). Para conseguir una total seguridad con las GTIs se han de seguir las ICH Q3A, Q3B y M7, ayudadas por equipos de HPLC-MS y GC-MS. Recientemente la industria farmacéutica ha sufrido una crisis de seguridad, de la cual una empresa fue la principal protagonista al detectar que el API Valsartán que distribuía contenía una impureza mutagénica y potencialmente genotóxica, NDMA. Por esto, las autoridades sanitarias pertinentes tuvieron que retirar los medicamentos que contenían esta sustancia poniendo el foco sobre los controles de seguridad y las medidas que se podrían haber adoptado y mejorado para haberlo evitado.

Palabras clave: calidad, métodos analíticos, ICH, Valsartán.

ABSTRACT

Quality control in the pharmaceutical industry is one of the fundamental pillars for the correct manufacture of medicines that are on the market and those that are going to be commercialized. To achieve this goal, companies have GMPs at their fingertips and vital quality control guides such as ICHs, which will help ensure compliance with safety in quality controls. This can be endangered during any manufacturing process with the presence of impurities, of which the most dangerous are genotoxic (GTIs). To achieve total security with the GTIs, the ICH Q3A, Q3B and M7 must be followed, aided by HPLC-MS and GC-MS equipment. Recently the pharmaceutical industry has suffered a security crisis, of which one company was the main protagonist when detecting that the Valsartan API that it distributed contained a mutagenic and potentially genotoxic impurity, NDMA. For this reason, the relevant health authorities had to withdraw the medicines containing this substance, focusing on the safety controls and the measures that could have been adopted and improved to have avoided them.

Key words: quality, analytical methods, ICH, Valsartan.

2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

El control de calidad en la industria farmacéutica es un servicio de suma importancia para la correcta fabricación tanto de nuevos medicamentos como de medicamentos ya comercializados. Para asegurar una buena calidad de los productos que se comercializan en la Unión Europea, las empresas farmacéuticas tienen que adaptar las directrices GMP (Good Manufacturing Practices), y junto con estas directrices a su vez tienen que cumplir con las ICH (International Conference on Harmonisation) para cumplir con los requisitos exigidos por las agencias sanitarias reguladoras correspondientes en cuanto a control de calidad desde la síntesis de principios activos, como su fabricación y desarrollo, hasta el momento final de la comercialización. En este trabajo las guías a las cuales vamos a realizar una revisión son las ICH, ya que nos proporcionan los límites a los cuales deben de estar acotadas las impurezas en los medicamentos. (1)

Estas guías van a ir ampliamente dirigidas al control en todos los ámbitos relacionados con el desarrollo, la síntesis, la producción, el almacenamiento, la distribución y la comercialización de los medicamentos. En cuanto al control de las impurezas, las guías encargadas del control son la ICH Q3A y la Q3B, también la Q3C y Q3D. (2-4)

Pero cuando las impurezas son sustancias genotóxicas (GTIs) tienen el potencial de ser mutagénicas y a su vez por consiguiente cancerígenas, por ello, para asegurarnos de cumplir con los requisitos de seguridad de las agencias sanitarias, se debe tener en cuenta la directriz ICH M7 sobre los límites de las GTIs como potencial riesgo carcinogénico. (5)

Para la correcta aplicación de estas guías, hay que llevar a cabo un estudio de seguridad usando unos métodos analíticos característicos. El método analítico más utilizado en la actualidad para identificar la estructura de las impurezas es la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) acoplada a espectroscopía de masas (MS): HPLC-MS, y también muy utilizada aunque algo menos que la anterior es la cromatografía de gases (GC) acoplada a espectroscopía de masas (MS): GC-MS. Mientras que la espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) se suele usar fuera de línea, es decir, no se acopla a ninguna de las técnicas anteriores y se utiliza de forma independiente. (6)

Con estas guías y estos métodos analíticos utilizados, se intenta erradicar la presencia de impurezas o productos de degradación en los productos farmacéuticos que pueden ser tóxicos y tener consecuencias no deseadas en la población. Pero no siempre se consigue, ya que la empresa Huahai Pharmaceutical, encargada de la producción del principio activo del

Valsartan, el cual se distribuía a muchas empresas farmacéuticas que comercializaban el Valsartan en España, se vio obligada a realizar la retirada de muchos lotes que estaban comercializados con su principio activo al contener impurezas genotóxicas. Esta intervención fue llevada a cabo por las autoridades sanitarias pertinentes, en España, la AEMPS. (7)

3. OBJETIVOS

Las ICH se redactaron para establecer unas guías a seguir por las empresas de la industria farmacéutica a la hora del desarrollo, fabricación, almacenamiento y distribución de productos farmacéuticos. En este trabajo se intenta ofrecer una recopilación bibliográfica sobre las ICH involucradas en el control de impurezas y productos de síntesis química, degradación y almacenamiento de los medicamentos, así como los métodos analíticos más utilizados para llevar a cabo la identificación y la caracterización de las impurezas como son el HPLC-MS y la GC-MS. También se recopila información sobre la guía ICH M7 para impurezas GTIs así como los límites que se deben aplicar y decisiones a tener en cuenta para disminuir o evitar la presencia de estas.

Además, en este trabajo se intenta recopilar información sobre el fallo producido por la empresa Huahai en el caso de los medicamentos retirados en España por contener GTIs en el principio activo Valsartán distribuido para su comercialización desde el punto de vista de las ICH. También cabe añadir, qué tipo de medidas se podrían haber realizado para haber evitado la crisis del Valsartán.

4. METODOLOGÍA

Para la realización de este trabajo se han recopilado las guías oficiales ICH sobre impurezas y los productos de degradación así como la guía M7 sobre las impurezas genotóxicas.

Para la localización de los artículos de los cuales se hace la revisión bibliográfica se han utilizado bases de datos como son PubMed, catálogo Cisne de la Biblioteca de la Universidad Complutense de Madrid y un informe de la empresa farmacéutica Huahai.

A su vez se consultaron páginas web con información especializada sobre las guías de impurezas y de los métodos analíticos para realizar los estudios de seguridad.

Para la búsqueda online se utilizaron términos como: "ICH", "Q3A", "Q3B", "M7", "guía de impurezas de fármacos", "HPLC-MS", "GC-MS", "Valsartan".

Tras la localización de las guías oficiales y de la diversidad de artículos científicos relacionados con los temas enfocados a la idea principal del trabajo, se seleccionaron los que pudiesen tener mayor importancia y relevancia para poder asentar las bases de esta revisión bibliográfica.

5. RESULTADOS

En los últimos años, ha ido ganando mucha importancia en las empresas farmacéuticas el valor de tener un excelente control de calidad para así minimizar al máximo el número de errores y sobre todo de la gravedad de estos a la hora de la fabricación y comercialización de los medicamentos. Para ello se crearon las ICH, las cuales marcan las pautas a seguir por las empresas para asegurar una calidad apropiada a los medicamentos y así poder asegurar la seguridad de la población frente a la administración de estos. Por eso a continuación se tratarán las ICH convenientes acerca de las impurezas y los productos de degradación para minimizar su presencia.

5.1. ICH Q3A

Es un documento que facilita una guía para las solicitudes de registro sobre el contenido y la cualificación de las impurezas en sustancias farmacológicas nuevas producidas por síntesis química y no registradas previamente en una región o estado miembro. No está destinado a aplicarse a nuevos fármacos utilizados durante la etapa de desarrollo de la investigación clínica. Pero hay sustancias que no están cubiertas como son los productos biológicos, biotecnológicos, péptidos, oligonucleótidos, radiofarmacéuticos y productos semisintéticos derivados de fermentación. (2)

Las impurezas se abordan desde dos perspectivas:

- Aspectos químicos: clasificación e identificación de impurezas.
- Aspectos de seguridad.

Las impurezas pueden ser:

- Impurezas orgánicas durante el proceso de fabricación y/o almacenamiento, pudiendo ser volátiles o no, de materiales de partida, subproductos, intermedios, productos de degradación, reactivos, ligandos y catalizadores.
- Impurezas inorgánicas durante el proceso de fabricación, pudiendo ser reactivos, ligandos, catalizadores, metales pesados u otros residuos metálicos, sales inorgánicas.

- Solventes residuales. Líquidos orgánicos o inorgánicos. Su control se realiza según la ICH Q3C. (4)

5.2. ICH Q3B

Es un documento que proporciona una guía para las solicitudes de registro sobre el contenido y la cualificación de las impurezas en nuevos productos farmacéuticos producidos a partir de nuevas sustancias farmacéuticas sintetizadas químicamente que no se registraron previamente en una región o estado miembro. Esta guía aborda solo las impurezas de nuevos productos farmacológicos clasificados como productos de síntesis de la sustancia farmacéutica, excipientes y/o productos de degradación. Hay sustancias excluidas de esta guía como son lixiviados del sistema de cierre, productos farmacológicos utilizados durante el desarrollo de la investigación clínica, productos biológicos, biotecnológicos, péptidos, oligonucleótidos, radiofarmacéuticos y productos semisintéticos derivados de fermentación. También se excluyen contaminantes extraños que no deberían estar en nuevos productos farmacéuticos y se abordan según las buenas prácticas de correcta fabricación (GMP), formas polimórficas e impurezas enantioméricas. (3)

En cuanto el tipo de impurezas van a ser las mismas que en la ICH Q3A: impurezas orgánicas, impurezas inorgánicas y solventes residuales (ICH Q3C). Y también se podrán abordar desde las perspectivas de aspectos químicos y de aspectos de seguridad.

5.3 CARACTERÍSTICAS DE LAS ICH Q3A Y Q3B

Lo recogido a continuación es aplicable tanto a la ICH Q3A como a la ICH Q3B, pudiendo haber algún matiz en determinados apartados detallados también a continuación.

En los registros de la documentación se deben recoger evidencias analíticas de que los procedimientos realizados han sido validados y adecuados para la detección e identificación de las impurezas. (2,3) Para cumplir estas guías con precisión hay que usar técnicas analíticas validadas y justificadas como son el HPLC-MS y la GC-MS. Ambas técnicas serán descritas más adelante. (2, 3)

En los registros también se deben recoger un resumen de los productos de degradación observados durante la fabricación y los estudios de estabilidad. Se deben estudiar todo tipo de sustancias descritas anteriormente; así como un resumen de cualquier estudio realizado para detectar productos de degradación con sus correspondientes resultados. Justificación de los procesos realizados y las impurezas obtenidas, además los perfiles de impurezas de los lotes representativos del proceso comercial propuesto deben compararse con los perfiles de los lotes utilizados en el desarrollo y cualquier diferencia discutida. (2,3)

Cualquier impureza detectada debe respetar unos límites establecidos correspondientemente a cada directriz. En el caso de las impurezas correspondientes a la directriz ICH Q3A, relativas a las impurezas de síntesis, se encuentran recogidas en la Tabla 1. Menor al 1,0% en los resultados deben estar recogidos con dos decimales, y si es por encima del 1,0% con un decimal. Se recomienda tabular los datos, así como las impurezas deben ir recogidas con un número asignado. Para poder incluir o excluir las impurezas, se deben realizar estudios de seguridad en los lotes desarrollados y con ello se podrá valorar el perfil de los lotes que se pueden incluir a lo largo del proceso comercial. Para impurezas poco potentes o efectos farmacológicos conocidos, la detección del límite debe ser proporcional al nivel en el que se conocen y se deben controlar las impurezas para no ser tóxicas. En el caso de las sustancias no identificadas, el procedimiento utilizado y las suposiciones hechas para establecer el nivel de la impureza se deben establecer claramente, referidas a un estudio analítico descriptivo cualitativo, con un criterio de aceptación general no superior al umbral de la Tabla 1. (2)

Según la directriz ICH Q3B cualquier producto de degradación observado en estudios de estabilidad realizados en las condiciones de almacenamiento recomendadas deben identificarse cuando esté presente a un nivel mayor que los umbrales de la Tabla 2. Si al identificarlo se produce un fallo, identificación incompleta, debe incluirse en la solicitud de registro. Mientras que los compuestos que no superen el umbral de identificación no necesitarían identificarse. Los compuestos identificados sufrirán un proceso a estudio para evaluar su toxicidad y seguridad, mientras que los compuestos no identificados y que se encuentran por debajo del umbral marcado por la directriz no deberán ser evaluados (3).

En el caso de la ICH Q3A se adjunta en **Tabla 1 del Anexo 1**.

En el caso de la ICH Q3B se adjunta en **Tabla 2 del Anexo 1**.

Cuando se realice la recopilación de datos y el proceso de identificación, las impurezas deben ir recogidas en la siguiente lista de impurezas:

- Impurezas orgánicas:
 - Cada impureza identificada especificada.
 - Cada impureza no identificada.
 - Cualquier impureza no especificada con un criterio de aceptación que no supere el umbral de identificación.
 - Impurezas totales.

5.4. CUALIFICACIÓN: IMPUREZAS Y PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN

En la cualificación se lleva a cabo el proceso de adquisición y evaluación de datos que establece la seguridad biológica de una impureza y/o producto de degradación individual o un perfil de impureza y/o de degradación dado en los niveles especificados. Se debe recoger toda la información posible sobre la estabilidad y seguridad que haya sobre las impurezas y los productos de degradación, para así ajustarse a los límites marcados en estudios ya realizados. Si no los hubiese, habría que realizar los estudios de seguridad correspondientes. (2-4)

Si estos estudios no se pudiesen realizar, habría que tener en cuenta los datos proporcionados por las tablas adjuntadas anteriormente (Tabla 1, Tabla 2 del Anexo 1). Y de esta formar marcar unos límites máximos tolerados de impurezas y de productos de degradación en los productos farmacéuticos a comercializar. (2-4)

En algunos casos, reducir el nivel de impureza/producto de degradación a no más del umbral puede ser más simple que proporcionar datos de seguridad. Para realizar un correcto estudio de seguridad hay que tener en cuenta los siguientes factores: población de pacientes, dosis diaria, la ruta y la duración de la administración del fármaco. (2-4)

Cualquier nueva impureza y/o producto de degradación observados en etapas posteriores de desarrollo debe identificarse si su nivel es mayor que el umbral de identificación (Tabla 1, Tabla 2 de Anexo 1). (2-4)

Para cualificar correctamente las impurezas se lleva a cabo una serie de decisiones recogidas en el siguiente árbol de decisiones (Figura 1):

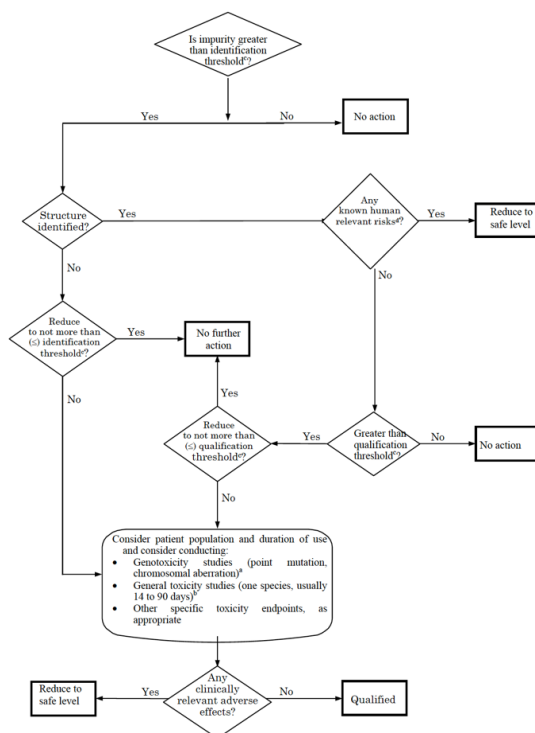


Figura1. Árbol de decisiones para la identificación y cualificación de una impureza. (2)

^a Si se considera, se debe realizar una evaluación mínima. Un estudio de genotoxicidad. ^b Si los estudios de toxicidad generales son deseables, se deben diseñar para permitir la comparación de material no calificado con material calificado. se debe maximizar el tiempo lo suficiente para conseguir una información relevante. En general, una duración mínima de 14 días y una duración máxima de 90 días. ^c Los umbrales más bajos pueden ser apropiados si la impureza es inusualmente tóxica. ^d Por ejemplo, ¿los datos de seguridad conocidos para esta impureza o su clase estructural excluyen la exposición humana a la concentración presente?

5.5. ICH M7

Esta guía tiene como objetivo proporcionar un marco práctico que sea aplicable a la identificación, categorización, calificación y control de las impurezas mutagénicas para limitar el riesgo potencial carcinógeno. Esta guía debe complementar la ICH Q3A y la Q3B. Además, proporciona orientación para nuevos medicamentos y nuevos productos farmacológicos durante su desarrollo clínico y en las aplicaciones para la comercialización, también se aplica a los productos ya comercializados. (5)

El enfoque de esta guía es sobre las sustancias reactivas al ADN que tienen un potencial de causar un daño, es decir, a ciertos niveles provocan mutaciones en el ADN, y, por lo tanto, causan cáncer. (5)

Para definir una ingesta aceptable para cualquier sustancia química no estudiada que presenta un riesgo insignificante de carcinogenicidad u otros efectos tóxicos se desarrolló el concepto de umbral de preocupación toxicológica (TTC, siglas en inglés). Los métodos en los que se basa el TTC implican una extrapolación lineal simple de la dosis que da una incidencia de tumor del 50% (TD₅₀) a una incidencia de 1 en 10⁶. Pero para aplicarlo en evaluación a límites aceptables en sustancias farmacéuticas, se podía justificar un valor de 1,5 µg/día correspondiendo a un riesgo teórico. Se identificó que algunos grupos estructurales tenían una potencia tan alta que las ingestas incluso por debajo del TTC tenían un potencial de riesgo carcinogénico significativo. Este grupo de carcinógenos mutagénicos de alta potencia se denomina “cohorte de interés”, comprende compuestos de aflatoxina, N-nitroso y alquilazoxi. (5)

El riesgo aceptable se establece en un nivel calculado teóricamente de aproximadamente un caso de cáncer adicional por 100.000 sujetos. Sin embargo, este cálculo es solo una aproximación y no debe considerarse como una indicación realista del riesgo real.

Cuando se ha identificado un riesgo potencial para una impureza, se debe desarrollar una estrategia de control adecuada para mantener los niveles de la GTI en niveles por debajo del nivel aceptable de riesgo de cáncer. (5)

Las presentaciones posteriores a la aprobación que involucran la síntesis química, la fabricación y los controles de la sustancia farmacéutica deben incluir una evaluación del impacto de riesgo potencial asociado con las impurezas mutagénicas de los cambios producidos en la ruta de síntesis, los reactivos, los solventes o las condiciones del proceso después del material de partida. Por lo que se evalúa para determinar si los cambios realizados provocan impurezas mutagénicas o valores superiores a los límites establecidos. (5)

Todos estos límites deben ser aplicados en las ICH Q3A y Q3B, por lo que las impurezas detectadas mediante estas guías, han de ser identificadas, cualificadas y cuantificadas para su correcta evaluación del potencial riesgo mutagénico. Y para poder realizar la correcta identificación se tienen que aplicar distintas técnicas analíticas como son el HPLC acoplado a MS (HPLC-MS) y GC acoplado a MS (GC-MS).

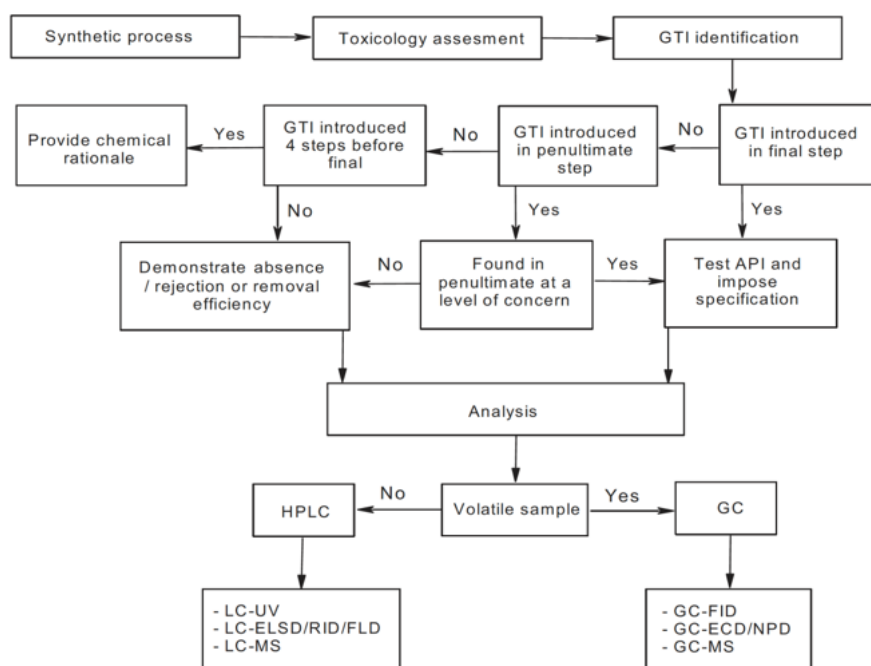


Imagen 2. Diagrama de flujo para la identificación, control y determinación de GTIs en sustancias farmacológicas. (1)

5.6. TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA IDENTIFICACIÓN DE IMPUREZAS

La elección de la técnica analítica se puede hacer al dividir en dos grupos las GTIs en función de su volatilidad (1). La HPLC acoplada a UV se seleccionará para GTI no volátiles debido a su simplicidad y disponibilidad (11), pero a menudo es posible que no ofrezcan suficiente sensibilidad, por ello el método más usado para la identificación de impurezas es el HPLC-

MS gracias a su gran sensibilidad, al ser muy selectivo y minimizar los problemas causados por las interferencias en la matriz y mejorando significativamente la calidad de los datos. (12, 13)

Mientras tanto, los GTIs volátiles se pueden identificar por GC, con un detector de ionización de llama (FID) (14, 15), mientras que si los GTIs son halógenos se puede usar el detector de captura de electrones (ECD). También el detector de nitrógeno-fósforo (NPD) sirve como herramienta para GTIs que contienen átomos de nitrógeno y/o fósforo. Sin embargo, las aplicaciones de estos detectores son limitadas, por eso el método más usado para GTIs volátiles es la GC-MS, al ofrecer una detección más sensible, selectiva, menor ruido de fondo y menos interferencias. (16, 17)

5.6.1 HPLC-MS

La cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) acoplada con la espectrometría de masa (MS) ofrece un modo de detección de pureza de forma rápida y eficaz. Tiene un alto potencial para proporcionar capacidades de detección para todas las impurezas, excepto las impurezas isoméricas, además al tener acoplado la MS ofrece la capacidad adicional de proporcionar información masiva y estructural sobre la clasificación de la impureza. (18, 19)

La combinación de técnicas de cromatografía líquida (HPLC) con espectrometría de masa (MS) ha sido un desarrollo importante que ha permitido avanzar en el análisis de impurezas en el ámbito farmacéutico (20). Para poder realizar una buena elución de la fase móvil, la polaridad entre fase móvil y fase estacionaria debe ser la adecuada para conseguir una correcta velocidad de elución, así el tiempo de retención es el necesario para poder separar las sustancias que haya en el material analizado. Tras hacer la elución, se expone la muestra desde la salida de la cromatografía a una fuente de ionización que genera un tamaño de partícula adecuado para ser analizado en la espectrometría de masa. Para conseguir una correcta velocidad de elución se puede evaporar el solvente sobre una cinta móvil calentada (21) o mediante el uso de flujos muy bajos, como la introducción directa del líquido de muestra (22) y FAB de flujo continuo (CF-FAB) (23) y thermospray.

La ionización de las partículas puede hacerse a presión atmosférica (APCI) o por ionización por electrospray (ESI) las cuales reemplazan el thermospray. El ESI consiste en usar gotitas cargadas como fuente de iones para la MS (24) consiguiendo así la ionización de las partículas.

La electropulverización produce una pulverización fina de gotitas ionizadas desde la salida de un capilar que lleva el eluyente del HPLC, mediante la aplicación de un alto voltaje (3-5 kV)

a la salida del capilar en la punta de rociado, creando un alto potencial eléctrico que provoca la producción de una fina niebla de gotitas, dándose a presión atmosférica (APCI). Esto se usa con gases como nitrógeno en electropulverización asistida neumáticamente o por nebulización ultrasónica (25). El nitrógeno se usa como ayuda para evaporar el solvente de las gotitas, que se vuelven más pequeñas, aumentando así la densidad de la carga hasta alcanzar un punto de inestabilidad que provoca la ruptura de las gotas. Esto provoca la producción de gotas más pequeñas hasta conseguir iones desolvatados que pasan al alto vacío del analizador de masas a través de una pequeña apertura. (20, 25)

La técnica ESI emplea un proceso de ionización suave donde se consigue una pequeña fragmentación formando iones protonados o desprotonados. Aquí los iones de carga múltiple se pueden producir por moléculas grandes, lo que permite su análisis en analizadores de masa con un rango de masa limitado, los cuales miden la relación de masa/carga. Para moléculas por debajo de aproximadamente 1000 Da, ESI produce predominantemente iones cargados individualmente, esto ocurre en la gran mayoría de las sustancias farmacológicas (20).

La técnica de ESI usada juntamente con el HPLC demostró ser una técnica de ionización muy eficiente, sobretodo para compuestos polares y muy compatible con solventes utilizados para HPLC de fase inversa. Pero las interfases tempranas funcionaron a velocidades de flujo en el rango de $\mu\text{L}/\text{min}$, siendo demasiado bajo; por lo tanto, tuvo que dividirse el flujo o utilizar columnas de HPLC capilares/microporos para conseguir un flujo adecuado. Además, la nebulización produjo una mejor aceptación de flujos más altos, permitiendo conectar directamente las columnas analíticas sin división de eluyente. También se consiguió una mejor formación de gotas con una gama más amplia de solventes. Aunque ahora no es necesario dividir el eluyente, se considera ventajoso dividir el flujo de las columnas o usar columnas de capilares/microporos, manteniendo la fuente de ESI más limpia y manteniendo la sensibilidad. (20-25)

Las columnas de HPLC de menor diámetro muestran una mayor sensibilidad cuando se combinan con ESI-MS, ya que el analito está más concentrado, eluyendo en un volumen más pequeño de eluyente. Una ventaja adicional de usar columnas de diámetro más pequeño y su bajo caudal de eluyente, es que, a menor muestra, menos tampón y menos contaminantes entran al espectrómetro de masas. En consecuencia, la fuente de ionización permanece más limpia durante un período más largo, manteniendo la sensibilidad. (20-25)

APCI se aplica a compuestos bastante menos polares que el ESI, hasta aproximadamente 1500 Da, produciendo generalmente iones cargados y es capaz de aceptar caudales de 1 a 2 mL/min , utilizando un nebulizador calentado para evaporar el disolvente. APCI es menos susceptible que ESI a la supresión de iones y tiene un rango de concentración dinámica más

amplia, pero no es adecuada para compuestos térmicamente inestables, ya que puede provocar fragmentación inesperada. (20-25)

5.6.2 GC-MS

La GC-MS es el método de elección para la identificación de solutos volátiles que pueden analizarse mediante la cromatografía de gases (26). Hay distintos tipos de espectrometría de masa acoplada a la cromatografía de gases.

La GC-AED proporciona información sobre la aparición de elementos individuales (impurezas) en los compuestos de análisis. Se monitoriza a diferentes longitudes de onda para medir la emisión atómica de los elementos elegidos, y los datos se registran como elementos de cromatogramas selectivos. Además, se puede calibrar el instrumento de análisis con compuestos ya conocidos para identificar impurezas en la muestra a analizar, además de compararlo con la respuesta de alguna impureza desconocida. (26, 27, 28)

GC-FT-IR proporciona información sobre la funcionalidad de una molécula en la que puede determinar la presencia o ausencia de un grupo funcional particular. La espectrometría infrarroja también es complementaria a la espectrometría de masas en la detección de compuestos aromáticos, isómeros cis-trans y dobles enlaces o posición del heteroátomo en los anillos. (26, 29)

La GC-CI-MS sirve también para analizar impurezas en muestras a analizar. La ionización química es una técnica de ionización suave, que a menudo facilita la detección de un ion correspondiente a la masa molecular para compuestos en los que el ion molecular no es estable en el modo de ionización de electrones. (26)

6. DISCUSIÓN

Las Autoridades de Regulación de Medicamentos requieren que la pureza de un producto farmacéutico esté completamente definida y que la presencia de impurezas se pruebe y evalúe completamente. Esto es importante para garantizar que los efectos farmacológicos y los toxicológicos observados sean del producto farmacéutico y no correspondiente a las impurezas para así asegurar el control de seguridad (20).

La identificación de los productos de degradación ayudará a comprender los posibles efectos secundarios asociados con la degradación, al diseño de una formulación y síntesis más favorable. (1, 20)

Las impurezas pueden surgir durante el proceso de síntesis, así como en el almacenamiento o en el proceso de degradación, procedentes tanto del principio activo como de cualquier excipiente o disolvente usado durante todo el proceso de fabricación del producto farmacéutico. (1, 8, 20)

Un caso muy reciente y actual es la presencia de una impureza genotóxica en el Valsartán como principio activo suministrado por la empresa Huahai Pharmaceuticals que provocó la retirada del mercado de muchos medicamentos que utilizaban el Valsartán suministrado por esta empresa. La AEMPS se movilizó para informar del problema y la solución fue la retirada de los medicamentos para minimizar riesgos. (30)

La impureza detectada era N-nitrosodimetilamina (NDMA) y fue detectada por parte de los laboratorios oficiales de control de medicamentos de la EMA y durante su revisión del proceso, se informó tanto a las empresas que comercializaban los medicamentos como a Huahai Pharmaceuticals del problema relacionado con el Valsartán. El NDMA es una impureza relacionada con el proceso de síntesis de Valsartán, ya que Huahai cambió la ruta de síntesis al introducir el DMF como disolvente en un paso, por lo cual se acaba generando mediante procesos químicos la síntesis de NDMA. La NDMA se clasifica como un carcinógeno humano probable de causar cáncer según las pruebas en animales, pero además se ha demostrado también la toxicidad hepática en humanos, por lo que las autoridades sanitarias (AEMPS, EMA) decidieron la retirada de los lotes correspondientes con el principio activo producido por Zhejiang Huahai (7).

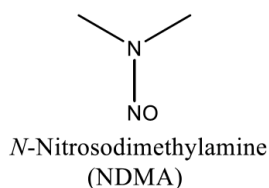


Imagen 3. Estructura de N-nitrosodimetilamina (NDMA). (7)

El proceso actual utilizado para la síntesis de Valsartán fue aprobado por las autoridades pertinentes antes de la implementación, pero acabó apareciendo en el proceso de síntesis la NDMA como una impureza inesperada de trazas generadas utilizando el proceso de síntesis. La impureza se genera durante la reacción secundaria entre una degradación en trazas de un disolvente y el reactivo en la etapa posterior (7).

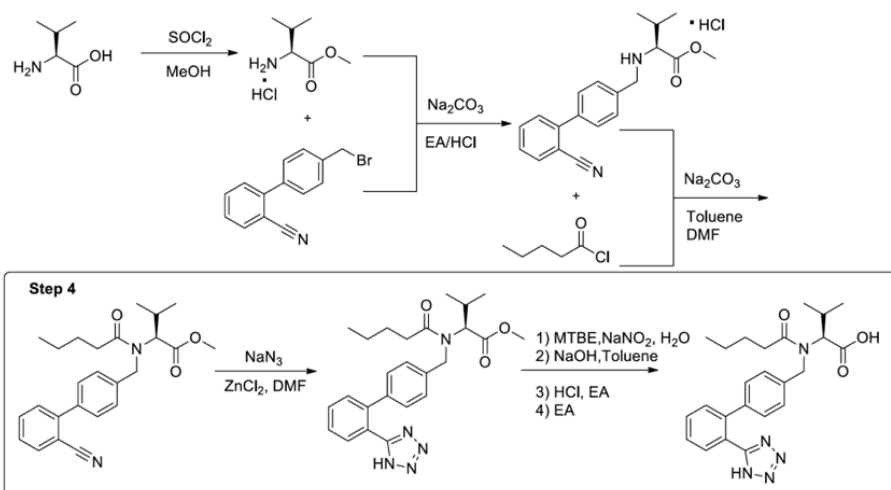


Imagen 4. Los pasos relevantes en Valsartán ROS de Huahai donde NDMA se puede formar durante el Paso 4. (7)

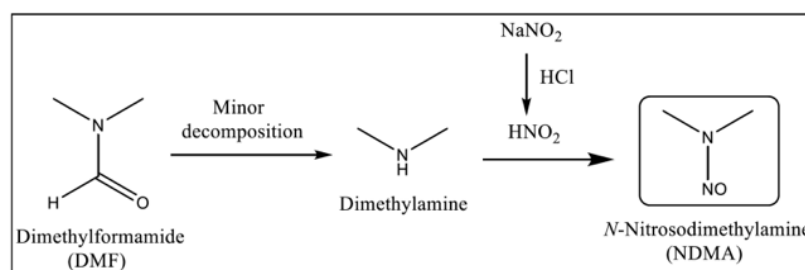


Imagen 5. Probable mecanismo de formación de NDMA en el Proceso de Huahai para Valsartán. (7)

Huahai comenzó su investigación de Valsartán, profundizó y amplió el estudio genotóxico. Basándose en el conocimiento y la capacidad de investigación, la evaluación de la impureza genotóxica se realizó acorde a los principios de la Guía ICH M7 (5), debido a que, al ser una sustancia mutagénica y potencialmente genotóxica, los niveles que se deben aplicar según las ICH Q3A y Q3B no son válidos en el control de seguridad de esta impureza.

Para poder esclarecer los niveles de impureza permitidos en el Valsartán, se aplicó la ICH M7(R1), por la cual la NDMA se cataloga como una sustancia carcinógena que, debido a su estructura y comportamiento químico, se considera igual que el dimetil sulfato (DMS). Esto significa que el límite diario de NDMA se establece en 1,5 µg/día, lo que significa que la cantidad máxima de NDMA que puede contener el Valsartán es de 4,69 ppm (5,7).

Por lo tanto, siguiendo la ICH M7, el límite de exposición de un paciente a la NDMA presente en el Valsartán se podría establecer en unos $10\mu\text{g}/\text{día}$ o 31,2 ppm para la dosis máxima (320 mg) (5, 7).

A pesar de los datos aportados por la empresa, la AEMPS en aplicación del principio de precaución ordenó la retirada de los lotes de medicamentos contaminados con NDMA procedentes de la empresa. Además, después y más recientemente, las agencias regulatorias del sector emitieron alertas en las que se informaba de la detección de lotes de medicamentos retirados de una segunda impureza probablemente carcinogénica, N-dietilnitrosamina (NDEA), un análogo químico de NDMA. Esta impureza también se detectó en Losartán API fabricado por Hetero Labs, y también en Irbesartán fabricado por Aurobindo Pharma. (32)

En España, la alerta de los xartanes contaminados ha llevado a la retirada de 930 lotes de 159 presentaciones de Valsartán, solo o combinado, de 18 laboratorios. Esta crisis ha hecho que se focalicen las agencias reguladoras en la fabricación del principio activo. Pero la responsabilidad de esta crisis no recae únicamente sobre los fabricantes de los APIs, también los fabricantes de medicamentos están obligados a auditar a sus proveedores y asegurarse del cumplimiento de la normativa vigente; así también como los titulares de autorizar la comercialización y las autoridades competentes deben inspeccionar las instalaciones y procesos implicados en la fabricación. (32)

7. CONCLUSIONES

Acontecimientos como el ocurrido recientemente en el caso del Valsartán ponen de manifiesto las siguientes conclusiones:

- La importancia de las Guías ICH, en este caso Q3A, Q3B y M7, que marcan los límites a los cuales las empresas farmacéuticas deben fijar las cantidades de impurezas y productos de degradación.
- Las técnicas analíticas como son el HPLC-MS y la GC-MS para la correcta identificación y cuantificación de las impurezas, mejoran el control de calidad de los productos farmacéuticos asegurando la mínima toxicidad en la población.
- El control continuado y la Farmacovigilancia sobre los productos farmacéuticos actualizan y mejoran el servicio de calidad.
- La correcta actuación de los diferentes organismos encargados del control de los medicamentos, es decir, EMA y AEMPS en este caso, provocó una retirada efectiva y

eficaz de los productos farmacéuticos comercializados que, en esta situación, estaban contaminados con la impureza.

- Los motivos por los cuales se han podido dar este fallo, pueden resumirse en una incorrecta evaluación de riesgos previa al cambio en el proceso de fabricación, ya sea por parte del fabricante, del cliente o de las autoridades sanitarias.
- Esto quizás se podría haber evitado:
 - o Si se hubiera realizado un control exhaustivo de los agentes y procesos críticos implicados en la fabricación por parte de las empresas encargada de la síntesis de los APIs para conocer que impurezas pueden generarse.
 - o Si dispusieran de sistemas instrumentales que permitan la identificación de toda sustancia relacionado y su cualificación de acuerdo con lo dispuesto en las guías, es decir, HPLC-MS y GC-MS.
 - o Con una correcta evaluación de los clientes a sus distribuidores de APIs para asegurarse de la correcta fabricación y del cumplimiento de las guías y normativas vigentes.
 - o Por parte de las agencias sanitarias (EMA y FDA) asegurando una correcta evaluación de las sustancias relacionadas presentes en materia prima farmacológicamente activa.
 - o Mejorando los aspectos relacionados con el aseguramiento de la calidad, ya sea tanto en el proceso de síntesis, como en la fabricación, en el almacenamiento, en la distribución y en la comercialización.

8. BIBLIOGRAFÍA

- (1) RAMAN, N., PRASAD, A. AND RATNAKAR REDDY, K. (2011). Strategies for the identification, control and determination of genotoxic impurities in drug substances: A pharmaceutical industry perspective. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 55(4), pp.662-667.
- (2) International Conference on Harmonisation Guideline on Impurities in New Drug Substances, Q3A(R2). (2006).
- (3) International Conference on Harmonisation Guideline on Impurities in New Drug Products, Q3B(R2), 2006. (2006).
- (4) International Conference on Harmonisation Guideline for Residual Solvents, Q3C(R4). (2009).

- (5) International Conference on Harmonisation Guideline on Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk, M7(R1). (2017).
- (6) European Medicines Agency, Guideline on the Specification Limits for Residues of Metal Catalysts or Metal Reagents, Doc. Ref. EMEA/CHMP/SWP/4446/2000, European Medicines Agency, 2008. (2008).
- (7) GÖRÖG, S. (2006). The importance and the challenges of impurity profiling in modern pharmaceutical analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 25(8), pp.755-757.
- (8) NDMA Impurity in Valsartan (2018). [online] Zhejiang Huahai Pharmaceutical Co. Available at: <http://www.huahaipharm.com> [Accessed 6 Dec. 2018].
- (9) KROES, R. (2004). Structure-Based Thresholds of Toxicological Concern (TTC): Guidance for Application to Substances Present at Low Levels in the Diet. *Toxicologic Pathology*, 32(2_suppl), pp.93-93.
- (10) European Medicines Agency, Question and answers on the CHMP, in: Guideline on the Limit of Genotoxic Impurities, Doc. Ref. EMA/CHMP/SWP/431994/2007, European Medicines Agency, 2009. (2009).
- (11) European Medicines Agency, Guideline on the Limits of Genotoxic Impurities CPMP/SWP/5199/02, EMEA/CHMP/QWP/251344/2006, European Medicines Agency, 2007. (2007).
- (12) RAMAN, N., REDDY, K., PRASAD, A. AND RAMAKRISHNA, K. (2008). Development and validation of RP-HPLC method for the determination of genotoxic alkyl benzenesulfonates in amlodipine besylate. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 48(1), pp.227-230.
- (13) ELDER, D., DELANEY, E., TEASDALE, A., EYLEY, S., REIF, V., JACQ, K., FACCHINE, K., OESTRICH, R., SANDRA, P. AND DAVID, F. (2010). The Utility of Sulfonate Salts in Drug Development. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 99(7), pp.2948-2961.
- (14) BAI, L., SUN, M., AN, J., LIU, D., CHEN, T. AND KORD, A. (2010). Enhancing the detection sensitivity of trace analysis of pharmaceutical genotoxic impurities by chemical derivatization and coordination ion spray-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217(3), pp.302-306.
- (15) DAVID, F., JACQ, K., SANDRA, P., BAKER, A. AND KLEE, M. (2009). Analysis of potential genotoxic impurities in pharmaceuticals by two-dimensional gas chromatography with Deans switching and independent column temperature control using a low-thermal-mass oven module. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 396(3), pp.1291-1300.

- (16) LI, W. (2004). Trace analysis of residual methyl methanesulfonate, ethyl methanesulfonate and isopropyl methanesulfonate in pharmaceuticals by capillary gas chromatography with flame ionization detection. *Journal of Chromatography A*, 1046(1-2), pp.297-301.
- (17) RAMAKRISHNA, K., RAMAN, N., RAO, K., PRASAD, A. AND REDDY, K. (2008). Development and validation of GC-MS method for the determination of methyl methanesulfonate and ethyl methanesulfonate in imatinib mesylate. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 46(4), pp.780-783.
- (18) ALZAGA, R., RYAN, R., TAYLOR-WORTH, K., LIPCZYNSKI, A., SZUCS, R. AND SANDRA, P. (2007). A generic approach for the determination of residues of alkylating agents in active pharmaceutical ingredients by in situ derivatization-headspace-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 45(3), pp.472-479.
- (19) ANTONOVICH, R. AND KELLER, P. (2002). Applicability of mass spectrometry to detect coeluting impurities in high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 971(1-2), pp.159-171.
- (20) ERMER, J. AND VOGEL, M. (2000). Applications of hyphenated LC-MS techniques in pharmaceutical analysis. *Biomedical Chromatography*, 14(6), pp.373-383.
- (21) LIM, C. AND LORD, G. (2002). Current Developments in LC-MS for Pharmaceutical Analysis. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 25(5), pp.547-557.
- (22) MCFADDEN, W., SCHWARTZ, H. AND EVANS, S. (1976). Direct analysis of liquid chromatographic effluents. *Journal of Chromatography A*, 122, pp.389-396.
- (23) HUNT, D. (1982). New ionization techniques in mass spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Physics*, 45, pp.111-123.
- (24) HARRISON, M. (1991). Continuous-flow fast atom bombardment mass spectrometry. *Talanta*, 38(9), p.1067.
- (25) DOLE, M., MACK, L., HINES, R., MOBLEY, R., FERGUSON, L., & ALICE, M. (1968). Molecular Beams of Macroions. *The Journal Of Chemical Physics*, 49(5), 2240-2249.
- (26) H GROSS, J., & ROEPSTORFF, P. (2011). *Mass Spectrometry: A Textbook* (2nd ed.). Springer Science & Business Media, 2011.
- (27) ŁANIEWSKI, K., WÄNNMAN, T., & HAGMAN, G. (2003). Gas chromatography with mass spectrometric, atomic emission and Fourier transform infrared spectroscopic detection as complementary analytical techniques for the identification of unknown impurities in pharmaceutical analysis. *Journal Of Chromatography A*, 985(1-2), 275-282.

- (28) WYLIE, P., & QUIMBY, B. (1989). Applications of gas chromatography with an atomic emission detector. *Journal Of High Resolution Chromatography*, 12(12), 813-818.
- (29) SULLIVAN, J., & QUIMBY, B. (1990). Characterization of a computerized photodiode array spectrometer for gas chromatography-atomic emission spectrometry. *Analytical Chemistry*, 62(10), 1034-1043.
- (30) RÖDEL, W. (1988). W. Herres: HRGC-FTIR: Capillary Gas Chromatography — Fourier Transform Infrared Spectroscopy. Dr. Alfred Hüthig Verlag, Heidelberg, Basel, New York 1987. Preis: 84,— DM; 46,— \$. *Food / Nahrung*, 32(2), 178-178.
- (31) Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios AEMPS. (2018). *Retirada del Mercado de algunos lotes de medicamentos que contienen Valsartán*. Retrieved from https://www.aemps.gob.es/informa/notasInformativas/medicamentosUsoHumano/calidad/2018/docs/NI_ICM-CONT_08-2018-retirada-valsartan.pdf
- (32) CAMPANERO MARTÍNEZ, M. (2019). El caso valsartán: cronología y evaluación retrospectiva. *Farmespaña Industrial*, 16-18. Retrieved from <http://www.farmaindustrial.com/digital-versions/magazines/index.html?id=70>

ANEXO 1

Tabla 1. Límites de los umbrales establecidos para las impurezas en la ICH Q3A. (2)

Dosis Diaria Máxima¹	Umbral de Reporte^{2,3}	Umbral de Identificación³	Umbral de Cualificación³
≤ 2g/día	0,05%	Ingesta de 0,10% o 1,0 mg por día (lo que sea menor)	Ingesta de 0,15% o 1,0 mg por día (lo que sea menor)
>2g/día	0,03%	0,05%	0,05%

¹ La cantidad de sustancia farmacéutica administrada por día.² Los umbrales de notificación más altos deben justificarse científicamente.³ Los umbrales más bajos pueden ser apropiados si la impureza es inusualmente tóxica.

Tabla 2. Límites de los umbrales establecidos para las impurezas en la ICH Q3B. (3)

<u>Umbrales de Reporte</u>	
<u>Dosis Diaria Máxima¹</u>	<u>Umbrales^{2,3}</u>
≤ 1g	0,10%
> 1g	0,05%
<u>Umbrales de Identificación</u>	
<u>Dosis Diaria Máxima¹</u>	<u>Umbrales^{2,3}</u>
<1mg	1,0% o 5µg IDT, el que sea menor
1mg - 10mg	0,5% o 20µg IDT, el que sea menor
>10mg - 2mg	0,2% o 2mg IDT, el que sea menor
>2mg	0,10%
<u>Umbrales de Calificación</u>	
<u>Dosis Diaria Máxima¹</u>	<u>Umbrales^{2,3}</u>
< 10mg	1,0% o 50µg IDT, el que sea menor
10mg - 100mg	0,5% o 200µg IDT, el que sea menor
> 100mg - 2g	0,2% o 3mg IDT, el que sea menor
> 2g	0,15%

¹ La cantidad de sustancia farmacéutica administrada por día

² Los umbrales para productos de degradación se expresan como un porcentaje de la sustancia farmacéutica o como ingesta diaria total (IDT) del producto de degradación. Los umbrales más bajos pueden ser apropiados si el producto de degradación es inusualmente tóxico

³ Los umbrales más altos deben estar científicamente justificados.