

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Zdravotní rizika N-nitrosaminů vyskytujících se ve farmakologicky  
účinných látkách ve srovnání s riziky spojenými s ostatními zdroji těchto látek

Bakalářská práce

2023

Lucie Novotná

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2022/2023

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Lucie Novotná**  
Osobní číslo: **C20035**  
Studijní program: **B0531A130012 Farmakochemie a medicínální materiály**  
Téma práce: **Zdravotní rizika N-nitrosaminů vyskytujících se ve farmakologicky účinných látkách ve srovnání s riziky spojenými s ostatními zdroji těchto látek**  
Téma práce anglicky: **Health risks of N-nitrosamines occurring in active pharmacological substances compared to risks associated with other sources of these substances**  
Zadávající katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

## Zásady pro vypracování

1. Popište hlavní zdroje N-nitrosaminů ve farmakologicky účinných látkách. Shrňte, jaké skupiny N-nitrosaminů a v jakém množství se vyskytují ve kterých typech léčiv. Pokuste se definovat parametry nejhoršího možného scénáře (worst-case scenario) z pohledu expozice N-nitrosaminům prostřednictvím léčiv.
2. Popište další významné zdroje N-nitrosaminů pro neprofesionální expozice. Pokuste se i v tomto případě definovat parametry nejhoršího možného scénáře.
3. Srovnajte zdravotní rizika N-nitrosaminů přijímaných prostřednictvím farmakologicky aktivních látek s riziky spojenými s příjmem N-nitrosaminů z jiných významných zdrojů. Pokuste se navrhnout nejúčinnější opatření snižující negativní zdravotní dopady nadměrného příjmu N-nitrosaminů.
4. Výsledky zpracujte formou závěrečné práce v souladu se Směrnicí UPCE č. 7/2019 "Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací" v platném znění.

Rozsah pracovní zprávy:  
Rozsah grafických prací:  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **prof. Ing. Miloslav Pouzar, Ph.D.**  
Ústav environmentálního a chemického inženýrství

Datum zadání bakalářské práce: **28. února 2023**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **30. června 2023**

**prof. Ing. Petr Němec, Ph.D.** v.r.  
děkan

L.S.

**prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.** v.r.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2023

Prohlašuji:

Práci s názvem *Zdravotní rizika N-nitrosaminů vyskytujících se ve farmakologicky účinných látkách ve srovnání s riziky spojenými s ostatními zdroji těchto látek* jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 30. 6. 2023

Lucie Novotná v. r.

## **PODĚKOVÁNÍ**

Hlavní poděkování patří zejména vedoucímu mé bakalářské práce prof. Ing. Miloslavu Pouzarovi Ph.D. za jeho odborné rady. Dále bych ráda poděkovala mé rodině a přátelům za jejich podporu během studia.

## **ANOTACE**

V úvodní části předložené bakalářské práce jsou krátce shrnuty nejvýznamnější toxické účinky N-nitrosaminů a popsány hlavní zdroje těchto látek ve farmakologicky aktivních ingrediencích a ve finálních léčivých přípravcích. Dále jsou zde shrnuty nejvýznamnější případy léčiv kontaminovaných N-nitrosaminy, které byly zachyceny kontrolními orgány v Evropské unii a USA: Zdravotní rizika představovaná takto kontaminovanými léčivy jsou následně porovnána se zdravotními riziky N-nitrosaminů přítomných v potravinách. K danému účelu byla použita data Evropského úřadu pro bezpečnost potravin. Bylo zjištěno, že nezávisle na typu expozičního scénáře mohou kontaminovaná léčiva podstatným způsobem přispívat ke zdravotním rizikům spojeným s expozicí N-nitrosaminům.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

N-nitrosaminy, karcinogeny, potraviny, aktivní farmaceutické ingredience kontaminace, zdravotní rizika

## **TITLE**

Health risks of N-nitrosamines occurring in active pharmacological substances compared to risks associated with other sources of these substances.

## **ANNOTATION**

In the introductory part of the presented bachelor thesis, the most important toxic effects of N-nitrosamines are briefly summarized, the main sources of these substances in pharmacologically active ingredients and in final pharmaceuticals are defined. Furthermore, the most important cases of N-nitrosamine-contaminated pharmaceuticals that have been intercepted by regulatory authorities in the European Union and the USA are summarised: the health risks described by such contaminated pharmaceuticals are then compared with the health risks of N-nitrosamines present in food. Data from the European Food Safety Authority were used for this purpose. It was found that, irrespective of the type of exposure scenario, contaminated pharmaceuticals can contribute substantially to health risks associated with exposure to N-nitrosamines.

## **KEYWORDS**

N-nitrosamines, carcinogens, food, Active pharmaceutical Ingredient, contamination, health risks

# OBSAH

Úvod.....	13
1    Obecné vlastnosti N-nitrosaminů.....	14
1.1    Struktura N-nitrosaminů a mechanismus jejich vzniku.....	14
1.2    Toxikologické vlastnosti N-nitrosaminů .....	15
2    Hlavní zdroje N-nitrosaminů v léčivech.....	17
2.1    Rozpouštědla.....	17
2.2    Dusitany ve vodě .....	19
2.3    Skladovací podmínky a obalové materiály.....	19
3    Nejvýznamnější N-nitrosaminy detekované v léčivech.....	20
3.1    NDMA .....	20
3.2    NDEA .....	21
4    Příklady léčiv kontaminovaných N-nitrosaminy .....	22
5    N-nitrosaminy v potravinách .....	30
5.1    Hodnocení kontaminace potravin N-nitrosaminy v zemích EU.....	30
5.2    Zdroje dat o úrovni kontaminace potravin N-nitrosaminy .....	31
5.2.1    Údaje o kontaminaci potravin z databáze EFSA.....	31
5.2.2    Údaje o kontaminaci potravin z odborné literatury .....	32
6    Expoziční scénáře pro odhad příjmu N-nitrosaminů z potravin.....	33
6.1    Expoziční scénář 1 pro věkovou kategorii dospělých .....	34
6.2    Expoziční scénář 2 použitý pro věkovou kategorii dospělých .....	36
6.3    Srovnání expozičních scénářů .....	37
7    Kombinovaná expozice N-nitrosaminům z potravin a léčiv .....	38
7.1    Potraviny dle expozičního scénáře 1 a Valsartan .....	38

7.2	Potraviny dle expozičního scénáře 2 a Valsartan .....	40
7.3	Zdravotní rizika spojená s kontaminací potravin a léčiv N-nitrosaminy .....	41
8	Závěr .....	44
9	Použitá literatura .....	45



## SEZNAM POUŽITÝCH ROVNIC, OBRÁZKŮ, TABULEK A GRAFŮ

<b>Rovnice 1:</b> Obecné schéma vzniku N-nitrosaminu v kyselém prostředí.....	14
<b>Rovnice 2:</b> Tvorba N-nitrosaminu v alkalickém prostředí.....	15
<b>Rovnice 3:</b> Výpočet akceptovatelného příjmu pro genotoxický karcinogen .....	21
<b>Rovnice 4:</b> Výpočet indexu charakterizujícího zdravotní riziko (RCR) .....	22
<b>Rovnice 5:</b> Zavedení tetrazolového kruhu do struktury Valsartanu .....	26
<b>Rovnice 6:</b> Vznik NDMA při syntéze sartanů.....	27
<b>Rovnice 7:</b> Výpočet koeficientu účinnosti (PF) .....	34
<b>Obrázek 1:</b> Obecná struktura N-nitrosaminu.....	14
<b>Obrázek 2:</b> N-nitrosaminy s mutagenním potenciálem.....	15
<b>Obrázek 3:</b> Metabolická aktivace .....	16
<b>Tabulka 1:</b> Přehled rozpouštědel (činidel) přispívajících ke vzniku konkrétních N-nitrosaminů .....	18
<b>Tabulka 2:</b> Přehled léčiv kontaminovaných N-nitrosaminy .....	23
<b>Tabulka 3:</b> Denní příjem N-nitrosaminů z potravin expozičního scénáře 1 .....	35
<b>Tabulka 4:</b> Denní příjem N-nitrosaminů z potravin expozičního scénáře 2 .....	36
<b>Tabulka 5:</b> Hodnoty indexu RCR pro příjem N-nitrosaminů z potravin a Valsartanu v rámci expozičního scénáře 1 a 2 .....	41
<b>Tabulka 6:</b> Poměry RCR při konzumaci potravin a konzumaci potravin a Valsartanu .....	43
<b>Graf 1:</b> Denní příjem N-nitrosaminů v rámci expozičního scénáře 1 v kombinaci s užíváním Valsartanu .....	39
<b>Graf 2:</b> Denní příjem N-nitrosaminů v rámci expozičního scénáře 2 v kombinaci s užíváním Valsartanu .....	40

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A ZNAČEK

AI	akceptovatelný příjem (Acceptable Intake)
API	aktivní farmaceutické ingredience (Active pharmaceutical Ingredient)
BMDL <sub>10</sub>	spodní hranice 95 % intervalu spolehlivosti křivky dávka-účinek pro dávku vyvolávající nádor u 10 % laboratorních zvířat v rámci <i>in-vivo</i> testu karcinogeneze (Benchmark dose level 10)
CEFCDB	Komplexní databáze spotřeby potravin (Comprehensive European Food Consumption)
95 % CI	95% interval spolehlivosti
CPNP	1-cyklopentyl-4-nitrosopiperazin
DI	denní příjem (Daily Intake)
DIPEA	N-diisopropylethylamin
DIPNA	N-nitrosodiisopropylamin
DMF	dimethylformamid
EFSA	Evropský úřad pro bezpečnost potravin (European food safety authority)
EMA	Evropská léková agentura (European Medicines Agency)
EU	Evropská unie
FDA	Americký úřad pro kontrolu potravin a léčiv (U. S. Food and Drug Administration)
FoodEx2	komplexní systém klasifikace a popisu potravin vyvinutý a spravovaný úřadem EFSA
IARC	Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (International Agency for Research on Cancer)
ICH	Mezinárodní rada pro harmonizaci technických požadavků pro léky k humánnímu použití (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use)
LB	dolní hranice expozice (lower bound chronic dietary exposure)

LB <sub>max</sub>	maximální hodnota dolní hranice expozice
LB <sub>min</sub>	minimální hodnota dolní hranice expozice
LOD	limita detekce (Limit of Detection)
LOQ	limita kvantifikace (Limit of Quantification)
MB	střední úroveň expozice (middle bound exposures)
MB <sub>max</sub>	maximální hodnota střední úrovně expozice
MB <sub>min</sub>	minimální hodnota střední úrovně expozice
MNP	1-methyl-4-nitrosopiperazin
MTD	maximální terapeutická dávka (Maximum therapeutic dose)
NDBA	N-nitrosodi-n-butylamin
NDEA	N-nitrosodiethylamin
NDMA	N-nitrosodimethylamin
NDPA	N-nitrosodipropylamin
NMA	N-nitroso-N-methylanilin
NMBA	N-nitroso-N-methyl-4-aminomáselná kyselina
NMEA	N-nitrosoethylmethylamin
NMOR	N-nitrosomorfolin
NMP	N-methyl-2-pyrrolidon
NMPA	N-nitrosomethylfenylamin
NMTCA	N-nitroso-2-methyl-thiazolidin-4-karboxylová kyselina
NPIP	N-nitrosopiperidin
NPRO	N-nitrosoprolin
NPYR	N-nitrosodipyrrolidin
NSAR	N-nitrososarkosin
NTCA	N-nitrosothiazolidin-4-karboxylová kyselina
P95	95. percentil denního příjmu

PDE	povolená denní expozice (Permitted daily exposure)
PF	koeficient účinnosti (Potency Factor)
POD	výchozí hodnota pro výpočet limitní dávky (Point of Departure)
RCR	risk characterisation ratio
TCNAs	celková denní expozice všemi N-nitrosaminy (Total Carcinogenic N-nitrosamines)
TCNAs PF	celková denní expozice všemi N-nitrosaminy zohledňující rozdílnou účinnost jednotlivých N-nitrosaminů (Total Carcinogenic N-nitrosamines -Potency Factor)
TD <sub>50</sub>	dávka, která v rámci in-vivo testu karcinogeneze vyvolá vznik nádorů u 50 % jedinců (Median toxic dose)
TEA	trimethylamin
UB	horní hranice expozice – (upper bound exposure)
UB <sub>max</sub>	maximální hodnota horní hranice expozice
UB <sub>min</sub>	minimální hodnota horní hranice expozice
$\bar{x}$	střední hodnota denní expozice

## Úvod

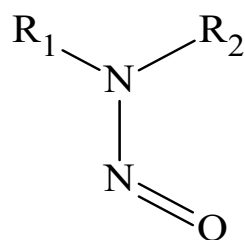
N-nitrosaminy jsou známé chemické karcinogeny, se kterými je člověk v jisté míře v každodenním kontaktu. Doposud bylo známo, že tyto chemické karcinogeny jsou přítomny v lidské stravě, nápojích, kosmetických produktech, tabákovém kouři, v životním prostředí apod. Nyní byly objeveny i jako kontaminanty v léčivech z různých lékových skupin. Jedním z důležitých zdrojů N-nitrosaminů v lidském organismu je tzv. endogenní nitrosace, při níž látky s N-nitroso skupinou vznikají v orgánech reakcí dusičnanů a dusitanů a sekundárních či terciárních aminů

Tato bakalářská práce se zabývá porovnáním zdravotních rizik spojených s příjmem N-nitrosaminů, způsobených následkem konzumace kontaminovaných potravin a užívání kontaminovaných léčiv.

# 1 Obecné vlastnosti N-nitrosaminů

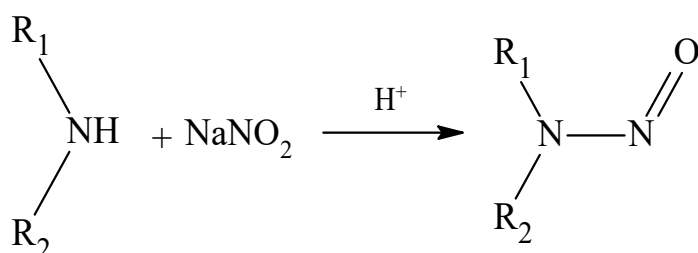
## 1.1 Struktura N-nitrosaminů a mechanismus jejich vzniku

N-nitrosaminy představují rozsáhlou skupinu látek s generickou chemickou strukturou, která je zobrazena na **Obr. 1**. [1] Charakteristickou funkční skupinou N-nitrosaminů je N-nitrososkupina –N–N=O. Za substituenty R<sub>1</sub> a R<sub>2</sub>, vázané na dusíku, je možné dosadit od atomu vodíku až po složitější chemické substituenty. [2]



**Obrázek 1:** Obecná struktura N-nitrosaminu

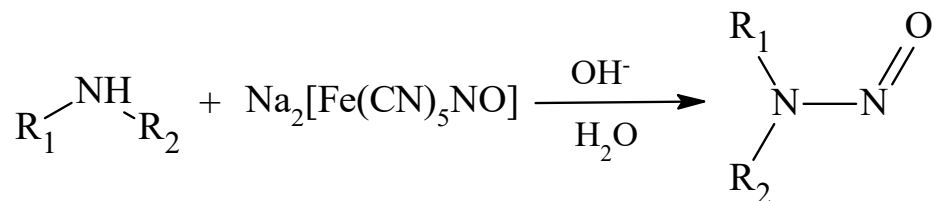
Nejtypičtějším příkladem tvorby N-nitrosaminů je nitrosace sekundárních aminů dusitanem sodným v kyselém prostředí (**Rov. 1**). [3]



**Rovnice 1:** Obecné schéma vzniku N-nitrosaminu v kyselém prostředí

N-nitrosaminy mohou ze sekundárních aminů vznikat nejen reakcí s dusitanem sodným, ale i s jinými nitrosačnými činidly, k nimž patří například nitrosyl fluorborát, tetraoxid dusný nebo oxid dusný v kyselém prostředí. [3] Syntéza N-nitrosaminů může být výrazně urychlena reakčními podmínkami jako je například nízké pH nebo vysoká teplota. [2]

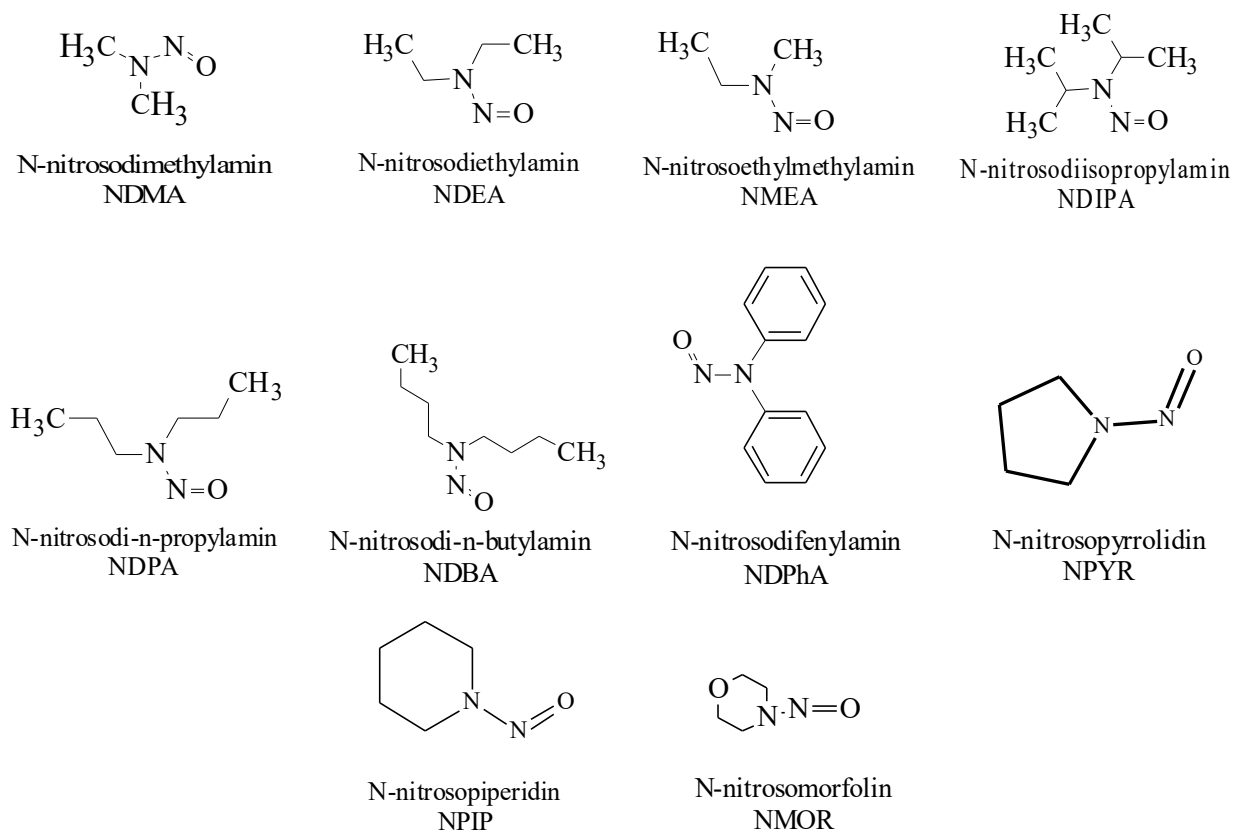
Ačkoliv je pro vznik N-nitrosaminů typické kyselé prostředí, nitroprusid sodný je schopný aminy nitrosovat i v podmínkách vodného alkalického prostředí (**Rov. 2**). [3]



**Rovnice 2:** Tvorba N-nitrosaminu v alkalickém prostředí

## 1.2 Toxikologické vlastnosti N-nitrosaminů

V dostupné literatuře je v souvislosti s kontaminací léčiv zmíněno celkem 10 struktur N-nitrosaminů, které vykazují vysoký mutagenní potenciál (**Obr. 2**). [4]

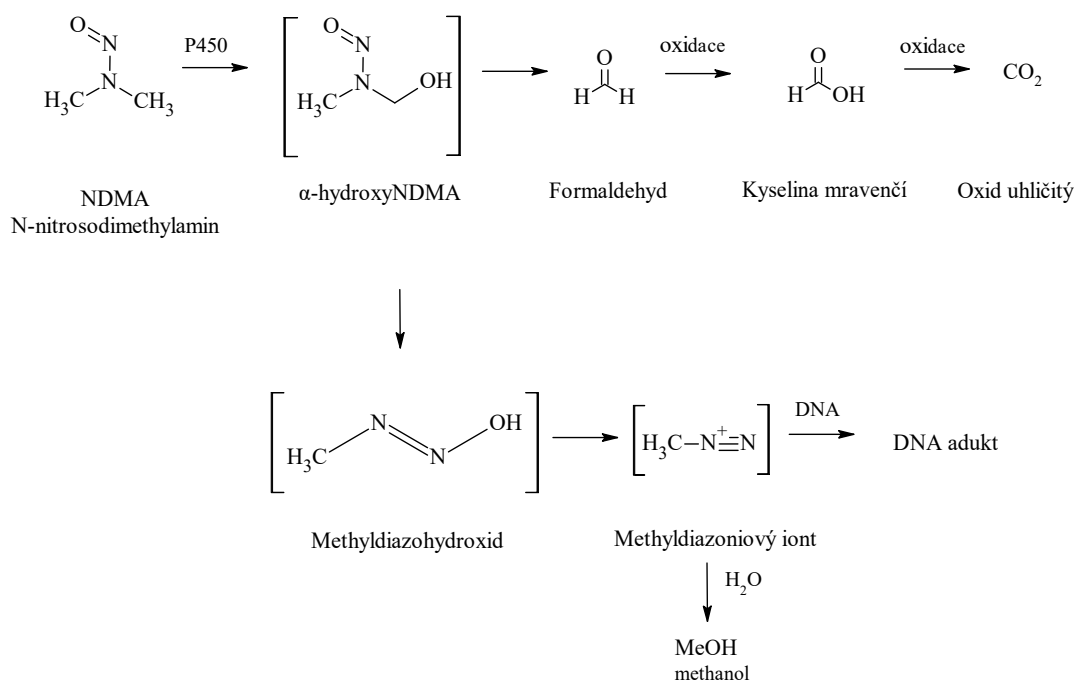


**Obrázek 2:** N-nitrosaminy s mutagenním potenciálem

Mutagenní a karcinogenní účinky výše zmíněných N-nitrosaminů byly prokázány laboratorně v rámci dlouhodobých testů karcinogenity a mutagenity na zvířatech. [4] Je však důležité poznamenat, že ne všechny N-nitrosaminy jsou mutagenní nebo karcinogenní. V databázích Vitic a Lhasa jsou shromážděny údaje o výsledcích reverzních

testů mutagenity (např. Amesův test) a o výsledcích dlouhodobých (celoživotních) testů karcinogeneze na hlodavcích. V těchto databázích se mimo jiné nachází i údaje o genotoxicitě a karcinogenezi 228 zástupců N-nitrosaminů s nízkou molekulovou hmotností v 18 % případů lze příslušné výsledky považovat za negativní. [5][6]

Řada N-nitrosaminů patří mezi tzv. nepřímé genotoxické karcinogeny. Tyto látky reagují s dusíkatými bázemi DNA a způsobují tak vznik mutací, které jsou schopny vyvolat nádorové bujení. Stejně jako ostatní nepřímé genotoxické karcinogeny, ani N-nitrosaminy nejsou schopné přímo reagovat s dusíkatými bázemi DNA. Pro reakci N-nitrosaminů s dusíkatými bázemi DNA musí nejprve proběhnout tzv. *metabolická aktivace*, která je obvykle katalyzována jedním z izoenzymů ze skupiny cytochrom P-450. (**Obr. 3**). [7][8]



**Obrázek 3:** Příklad metabolické aktivace N-nitrosdimethylaminu



## 2 Hlavní zdroje N-nitrosaminů v léčivech

Ke kontaminaci aktivní farmaceutické ingredience (active pharmaceutical ingredient-API) nebo finálního lékového produktu může dojít v každé jednotlivé fázi výroby. První potenciální riziko nechtěného vzniku N-nitrosaminů souvisí se samotnou syntézou API. Příčinou výskytu N-nitrosaminů v API může být například použití kontaminovaných výchozích surovin některým z prekurzorů N-nitrosaminů, přítomnost N-nitrosaminů v některé ze surovin, degradace některé z použitých látek apod. [9]

Riziko vzniku N-nitrosaminů existuje také během přípravy finální lékové formy. V této fázi procesu je potřeba dbát zvýšené opatrnosti při manipulaci s jednotlivými látkami a dodržovat normy tak, aby se předešlo křížové kontaminaci či degradaci léčiva. K samovolnému vzniku N-nitrosaminů mohou přispět například nevyhovující skladovací podmínky, použití nevhodných materiálů a barviv při balení finálního léčivého produktu apod. [10]

### 2.1 Rozpouštědla

Výroba farmaceutických produktů patří z pohledu spotřeby organických rozpouštědel k těm nejnáročnějším. Organická rozpouštědla mají nezastupitelnou roli při syntéze API a pomocných léčivých látek, ale i při formování finálního lékového produktu. Rozpouštědla, která se používají ve farmaceutickém průmyslu velmi často vykazují karcinogenní nebo genotoxické účinky, ale zároveň nevykazují žádný terapeutický účinek. Zejména těchto toxikologických důvodů se výrobci snaží minimalizovat počet a množství rozpouštědel používaných při výrobě API a lékových produktů. [11]

V některých případech není možné použítá rozpouštědla z finálního produktu zcela odstranit a jejich zbytková množství pak mohou přispět ke vzniku N-nitrosaminů. [10] Limitní hodnoty zbytkových koncentrací rozpouštědel jsou uváděny v příslušných lékopisech s odkazem na stanovisko Mezinárodní rady pro harmonizaci technických požadavků na humánní léčivé přípravky (International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use-ICH). [12] **Tab. 1** obsahuje výčet konkrétních rozpouštědel a činidel, která jsou používána ve farmaceutickém průmyslu a mohou tedy přispívat k tvorbě N-nitrosaminů v API a v léčivých produktech. [10] **Tab. 1** byla doplněna o informace týkající se povolených zbytkových koncentrací rozpouštědel a hodnot povolené denní expozice PDE (Permitted daily exposure) pro jednotlivá rozpouštědla, která byla zmíněna

v rámci směrnice (ICH Q3C(R6)). PDE je definováno ve zmíněné směrnici (ICH Q3C(R6)) jako maximální přijatelný denní příjem zbytkového rozpouštědla ve farmaceutickém produktu. [13] Tato doplňující data poskytují významné informace o bezpečném a přijatelném používání těchto rozpouštědel.

**Tabulka 1:** Přehled rozpouštědel (činidel) přispívajících ke vzniku konkrétních N-nitrosaminů

<b>Rozpouštědlo nebo činidlo</b>	<b>Potenciální N-nitrosaminový kontaminant</b>	<b>PDE (mg/den)</b>	<b>Povolená zbytková koncentrace (ppm)</b>
Dimethylformamid (DMF)	N-nitrosodimethylamin (NDMA)	8,8	880
N, N-dimethylacetamid	N-nitrosodimethylamin (NDMA)	10,9	1090
Triethylamin (TEA)	N-nitrosodiethylamin (NDEA)	62,5	6250
Tributylamin/ Dibutylamin	N-nitrosodi-n-butylamin (NDBA)		
N-methyl-2-pyrrolidon (NMP)	N-nitroso-N-methyl-4-aminomáselná kyselina (NMBA)	5,3	530
Diisopropylethylamin (DIPEA)	N-nitrosodiisopropylamin (DIPNA)		
N, N-dimethylanilin	N-Nitrosomethylfenylamin (NMPA)		

S ohledem na finanční ekologické ale i ekologické aspekty je běžnou praxí používání recyklovaných rozpouštědel. [14] V případě, že jsou recyklovaná rozpouštědla dodávána externím dodavatelem je potřeba vzít v úvahu, že někteří dodavatelé nemusí zcela dodržovat správnou výrobní praxi a nemusí chápat důsledky přítomnosti stopových množství kontaminantů v recyklovaných rozpouštědlech. Rozpouštědla mohou přímo nebo prostřednictvím svých degradačních produktů vést k tvorbě N-nitrosaminů. [10]

## 2.2 Dusitany ve vodě

Voda má klíčovou roli ve farmaceutickém průmyslu, neboť je nejen důležitou, ale také nezbytnou surovinou a také nedílnou součástí většiny farmaceutických procesů a produktů. Voda může být využívána při samotné syntéze API nebo finálního lékového produktu jako rozpouštědlo, pomocná látka nebo jako čistící či oplachový prostředek na použité nástroje a zařízení atd. [15] Používání dusíkatých hnojiv, pesticidů a herbicidů může způsobit přítomnost dusitanů v povrchové i v podzemní vodě. Koncentrace dusitanů ve vodě závisí na úrovni její čistoty. [10] Dle stupně čistoty je možné vodu rozdělit do tří kategorií: pitná voda, přečištěná a voda do injekčních stříkaček. Minimálním standardem pro výrobu API je pitná voda, kde obsah dusitanů nepřesahuje limit 3mg/l. Ve finální fázi výroby API je nutné již pracovat pouze s vodou o vyšším stupni čistoty. [15] Obsah dusitanů ve vodě o vyšším stupni čistoty je podstatně nižší než 0,01 mg/l.[16]

N-nitrosaminy mohou vznikat také jako vedlejší produkty dezinfekčního procesu pitné vody tzv. chloraminace. [17]

## 2.3 Skladovací podmínky a obalové materiály

Materiály používané na výrobu blistrů, zejména krycích fólií, které obsahují nitrocelulózu představují jedno z dalších rizik vzniku kontaminace N-nitrosaminy. Kromě tiskařských barev se nitrocelulóza vyskytuje i v lacích určených k potisku hliníkových fólií. K vytvoření dostatečně těsného spoje mezi zakládací a krycí fólií v rámci blistrovacích procesů je potřeba pracovat za velmi vysokých teplot, které mohou dosahovat až 250 °C. [18] Při takto vysokých teplotách může dojít k tepelnému rozkladu nitrocelulózy, což vede k uvolnění kyseliny dusičné a oxidu dusičitého. Tyto látky mohou při styku s přítomnou vodou dále reagovat za vzniku kyseliny dusité. Kyselina dusitá pak může způsobit nitrosaci aminů, které jsou například součástí inkoustu určenému k potisku krycích fólií. V průběhu operací souvisejících s tvorbou puchýřů a zatahováním finálního lékového produktu se vzniklé N-nitrosaminy mohou odpařovat z krycí fólie a následně kondenzovat na povrchu lékového produktu, který je uložen v přilehlé dutině blistru. [18][19]

### 3 Nejvýznamnější N-nitrosaminy detekované v léčivech

V posledních letech byl zaznamenán prudký nárůst pozitivních nálezů nadlimitních koncentrací kontaminantů ze skupiny N-nitrosaminů v léčivech. K nejčastěji identifikovaným kontaminantům léčiv patří N-nitrosodimethylamin (NDMA) a N-nitrosodiethylamin (NDEA). Uvedené N-nitrosaminy byly detekovány v několika typech léčiv ze skupiny sartanů, dále v léčivech na bázi Ranitidinu, Nizatidinu nebo Metforminu. [20][21] V léčivu Vareniklin, prodávaným pod obchodním názvem Champix, byl objeven kontaminant v podobě N-nitroso-vareniklinu (z důvodu malému množství dat, nebude Vareniklin v dalších kapitolách této práce zmiňován). [22]

#### 3.1 NDMA

NDMA je těkavý N-nitrosamin, který vzniká z celé řady prekurzorů. Běžně se vyskytuje v jednotlivých složkách životního prostředí. Pro většinu lidí je nejvýznamnějším zdrojem expozice NDMA jeho endogenní produkce z prekurzorů, které se přirozeně vyskytují v těle nebo ve stravě. Mezi vnější zdroje expozice NDMA patří potraviny, sladové nápoje, voda, cigaretový kouř a v menší míře pryžové výrobky, toaletní a kosmetické produkty. Někteří lidé mohli být vystaveni expozici NDMA prostřednictvím užívání kontaminovaných léčiv.[23]

NDMA byl Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny (The International Agency for Research on Cancer-IARC) v rámci klasifikačního systému zařazen do skupiny 2A-jedná se tedy o pravděpodobný lidský karcinogen.[24] Tato skupina zahrnuje látky, pro které jsou dostupná dostatečně kvalitní data o jejich karcinogenních účincích, získaná v rámci testů na laboratorních zvířatech, ale chybí dostatečně kvalitní data z epidemiologických studií. [25] Expozice NDMA vyvolala u laboratorních zvířat zvýšený výskyt zhoubných nádorů jater, plic, ledvin, trávicího traktu, močového měchýře a dále vznik leukémie a mnohočetného myelomu. [23] [26]

V případě genotoxických karcinogenů, mezi které patří i NDMA, nelze stanovit přesný práh účinku. Pro potřeby regulace zdravotních rizik je pak za přípustnou považována taková míra kontaminace danou látkou, která teoreticky vyvolá navíc maximálně jeden nádor na 100 000 exponovaných pacientů oproti přirozenému pozadí. Maximální denní příjem kontaminující látky, který zajistí dosažení výše zmíněné úrovně zdravotního rizika je v dokumentech příslušných lékových agentur (Americký úřad pro kontrolu potravin a léčiv-FDA a Evropská léková agentura-EMA) označován jako akceptovatelný příjem

(acceptable intake – AI). Hodnotu AI lze vypočítat s využitím různých typů vstupních dat (point of departure – POD), nejčastěji je však využívána hodnota TD<sub>50</sub> (median toxic dose-tedy dávka, která v rámci dlouhodobého *in-vivo* testu karcinogeneze vyvolá vznik zhoubného nádoru u 50 % laboratorních zvířat). Uvedená dávka teoreticky odpovídá riziku vzniku nádoru na úrovni 1:2, dávku odpovídající riziku na úrovni 1:100 000 je pak z této hodnoty možné získat prostou lineární extrapolací – tedy TD<sub>50</sub>×2/100 000. Pro získání výsledné hodnoty AI dané látky pro 50kg pacienta je nutné příslušnou dávku odpovídající riziku na úrovni 1:100 000 v mg/kg vynásobit 50. [25]

Výsledný vztah pro výpočet AI pro 50 kg pacienta odpovídá **Rov. 3**.

$$AI = \frac{TD_{50} \times 2 \times 50}{100\,000} = \frac{TD_{50}}{1000} \text{ [mg/den]}$$

**Rovnice 3:** Výpočet akceptovatelného příjmu pro genotoxický karcinogen

Pro NDMA je v dokumentech FDA a EMA uváděna hodnota AI = 0.096 µg/den. [27]  
[28]

## 3.2 NDEA

NDEA je světle žlutá kapalina, která je rozpustná ve vodě, alkoholu, lipidech, etheru a dalších organických rozpouštědlech. NDEA je nestabilní v kyselém prostředí a snadno podléhá fotolýze. Při tepelném rozkladu NDEA se uvolňují toxické páry oxidů dusíku. [29] NDEA se používá jako přísada do benzínu a maziv, antioxidant a stabilizátor pro průmyslové materiály. [30] Přítomnost NDEA byla prokázána například v tabákovém kouři, masných výrobcích a whisky. [31]

Podle IARC je NDEA klasifikován jako karcinogen skupiny 2A. [24] Tato klasifikace byla učiněna na základě pozitivních výsledků dlouhodobých testů karcinogenity na zvířatech, jelikož údaje z kvalitních epidemiologických studií dosud nejsou dostupné. Expozice NDEA vyvolala u laboratorních zvířat zvýšený výskyt zhoubných nádorů jícnu, jater a při vysokých dávkách i ledvin. Další zdroje uvádí vznik nádorových onemocnění kůže, nosní dutiny i orgánů dýchací soustavy. [29] Hodnota AI pro NDEA uvedená v dokumentech FDA a EMA je 0.0265 µg NDEA/den. [27][28]

## 4 Příklady léčiv kontaminovaných N-nitrosaminy

V **Tab. 2** jsou shrnuty informace o výskytu a množství jednotlivých N-nitrosaminů v konkrétních léčivech-aktuální ke dni 18. 11. 2021 [32]. V **Tab. 2** jsou uvedeny individuální koncentrace N-nitrosaminů nalezených v příslušných léčivech, odpovídající hodnoty denního příjmu při maximální terapeutické dávce léčiva (DI při MTD) a hodnoty AI pro dané N-nitrosaminy.

Dále je v **Tab. 2** zaznamenána hodnota indexu risk characterisation ratio (RCR), který charakterizuje zdravotní riziko spojené s příjmem daného N-nitrosaminu a je vypočten podle **Rov. 4**.

$$RCR = \frac{DI \text{ při MTD}}{AI}$$

**Rovnice 4:** Výpočet indexu charakterizujícího zdravotní riziko (RCR)

Jestliže je výsledná hodnota  $RCR \leq 1$ , znamená to, že příslušné zdravotní riziko je zanedbatelné a nevyžaduje zvýšenou pozornost či zavedení preventivních opatření. Naopak hodnota  $RCR > 1$  upozorňuje na zvýšená zdravotní rizika, která vyžadují patřičnou pozornost a přijetí preventivních opatření k jejímu snížení. [33]

Kontaminace N-nitrosaminy byla zjištěna u léčiv z následujících lékových skupin: (i) blokátory receptoru angiotenzinu II, (ii) antagonisté receptoru histaminu-2, (iii) antidiabetika a (iv) antibakteriální léčiva.

**Tabulka 2:** Přehled léčiv kontaminovaných N-nitrosaminy

<b>Léčivo</b>	<b>N-nitrosamin</b>	<b>AI (µg/den)</b>	<b>Příjem N-nitrosaminů z jedné tablety (µg/tableta)</b>	<b>Denní příjem (DI) N-nitrosaminů při MTD (µg/den)</b>	<b>RCR</b>
Valsartan 160 mg ( 1, i) [28]	NDMA	0,096	0,45	0,9	9,4
	NDEA	0,0265	1,31	2,62	98,9
Valsartan 320mg ( 1, i) [28]	NDMA	0,096	<LOD-20,19	≤20,19	≤210,3
	NDEA	0,0265	<LOD-1,22	≤1,22	≤46,0
	NMBA	0,0265	≥ LOD – <LOQ		
Irbesartan ( 1, i) [28]	NDMA	0,096	≥ LOD– <LOQ		
	NDEA	0,0265	≥ LOD – <LOQ		
Losartan ( 1, i) [28]	NDMA	0,096	≥ LOD – <LOQ		
	NDEA	0,0265	≥ LOD – <LOQ		
	NMBA	0,0265	≥ LOD – <LOQ		
Ranitidin 75mg (2, ii, ) [20]	NDMA	0,096	0,01-0,04	0,04-0,16	0,4-1,7
Ranitidin 150mg (2, ii, ) [20]	NDMA	0,096	0,01-0,36	0,02-0,72	0,2-7,5
Ranitidin 300mg (2, ii, ) [20]	NDMA	0,096	0,01-0,86	0,01-0,86	0,1-9,0
Nizatidin 150mg (2, ii, ) [20]	NDMA	0,096	0,01-0,02	0,02-0,04	0,2-0,4
Nizatidin 300mg (2, ii, ) [20]	NDMA	0,096	0,01-0,03	0,01-0,03	0,1-0,3

<b>Léčivo</b>	<b>N-nitrosamin</b>	<b>AI (µg/den)</b>	<b>Příjem N-nitrosaminů z jedné tablety (µg/tableta)</b>	<b>Denní příjem (DI) N-nitrosaminů při MTD (µg/den)</b>	<b>RCR</b>
Ranitidin 75mg (2, ii, ) [20]	NDMA	0,096	0,01-0,04	0,04-0,16	0,4-1,7
Ranitidin 150mg (2, ii, ) [20]	NDMA	0,096	0,01-0,36	0,02-0,72	0,2-7,5
Ranitidin 300mg (2, ii, ) [20]	NDMA	0,096	0,01-0,86	0,01-0,86	0,1-9,0
Nizatidin 150mg (2, ii, ) [20]	NDMA	0,096	0,01-0,02	0,02-0,04	0,2-0,4
Nizatidin 300mg (2, ii, ) [20]	NDMA	0,096	0,01-0,03	0,01-0,03	0,1-0,3
Metformin 500mg, s prodlouženou dobou uvolňování (3, iii) [34]	NDMA	0,096	<LOD-0,19	≤0,76	≤7,9
Metformin 750mg, s prodlouženou dobou uvolňování (3, iii) [34]	NDMA	0,096	0,01-0,08	0,026-0,21	0,3-2,2

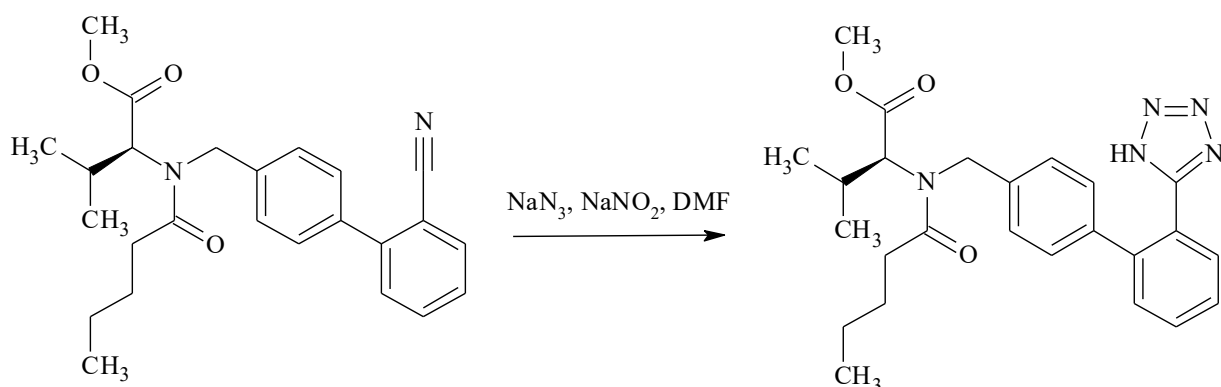


<b>Léčivo</b>	<b>N-nitrosamin</b>	<b>AI (µg/den)</b>	<b>Příjem N-nitrosaminů z jedné tablety (µg/tableta)</b>	<b>Denní příjem (DI) N-nitrosaminů při MTD (µg/den)</b>	<b>RCR</b>
Metformin 1000mg, s prodlouženou dobou uvolňování (3, iii) [34]	NDMA	0,096	<LOD-0,01	≤0,02	≤0,2
Metformin 500mg, okamžité uvolňování (3, iii) [34]	NDMA	0,096	<LOD		
Metformin 850mg, okamžité uvolňování (3, iii) [34]	NDMA	0,096	<LOD-0,01	<LOD-0,024	≤0,25
Metformin 1000mg, okamžité uvolňování (3, iii) [34]	NDMA	0,096	<LOD		
Pioglitazon HCl (3,-)[35]	NDMA	0,096	≥ LOD – <LOQ		
Rifampin 150mg (4, iv) [36]	MNP	0,0265	0,23-0,52	0,92-2,08	34,7-78,5
Rifampin 300mg (4, iv) [36]	MNP	0,0265	0,39-0,96	0,78-1,92	29,4-72,4

Léčivo	N-nitrosamin	AI ( $\mu\text{g}/\text{den}$ )	Příjem N-nitrosaminů z jedné tablety ( $\mu\text{g}/\text{tableta}$ )	Denní příjem (DI) N-nitrosaminů při MTD ( $\mu\text{g}/\text{den}$ )	RCR
Rifampin 600mg (injekce) (4, iv) [36]	MNP	0,0265	0,48-1,51	0,48-1,51	18,1-57,0
Rifapentin 150mg (4, iv) [36]	CPNP		1,22-2,13	4,88-8,52	

Zdroje N-nitrosaminů: 1- rozpouštědla, 2- skladovací podmínky, 3- pravděpodobně pomocné látky, 4- postup syntézy API  
**LOD** – limita detekce použité metody; **LOQ** – limita kvantifikace použité metody

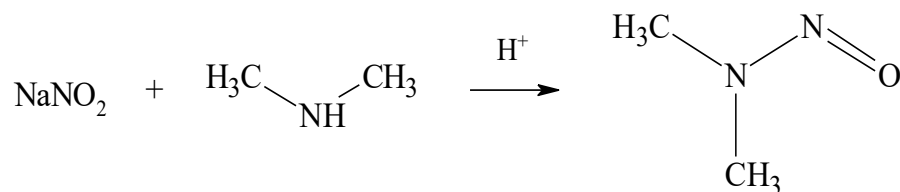
V první části **Tab. 2** jsou hromadně shrnuty případy N-nitrosaminů detekovaných v léčivech ze skupiny sartanů, jmenovitě ve Valsartanu, Losartanu a Irbesartanu. Léčiva z této léčivé skupiny jsou předepisována pacientům ke snížení vysokého krevního tlaku. Jedná se o takzvané blokátory receptoru angiotenzinu II. [28] Všechna výše zmíněná léčiva ze skupiny sartanů obsahují ve své struktuře společný charakteristický strukturální prvek, kterým je tetrazolový kruh. **Rov. 5** zobrazuje jeden z možných způsobů zavedení tetrazolového kruhu do struktury Valsartanu. [37]



**Rovnice 5:** Zavedení tetrazolového kruhu do struktury Valsartanu

Bylo zjištěno, že při syntéze API Valsartanu došlo ke vzniku NDMA v důsledku použití nevhodně zvoleného rozpouštědla dimethylformamidu (DMF) v kombinaci s dalšími látkami použitými při této syntéze API. Kontaminant ve formě NDMA vznikl reakcí dusitanu sodného

s molekulami dimethylaminu v kyselém prostředí (**Rov. 6**). Bylo zjištěno, že dimethylamin se v syntéze této API vyskytl jako kontaminant rozpouštědla DMF. [38] Syntéza tetrazolového kruhu sartanů nepředstavuje jediný zdroj kontaminace. N-nitrosaminové kontaminanty mohly vzniknout také interakcemi s jinými excipienty nebo obalovými materiály (viz kapitola 2.3). [39]



**Rovnice 6:** Vznik NDMA při syntéze sartanů

Množství NDMA, která byla nalezena v jednotlivých tabletách léčiv ze skupiny sartanů se pohybovala v rozmezí od <LOD do 20,19 µg. Nejvyšší míru kontaminace vykazovalo léčivo *Valsartan 320mg/HCTZ 25mg* společnosti Prinston Pharmaceutical (rok nálezů: 2019). V tomto případě byl pacient při MTD exponován až 20,19 µg. NDMA/den. [28] Vypočtená hodnota RCR  $\cong$  210 signalizuje, že užívání takto kontaminovaného léčiva představuje opravdu závažné zdravotní riziko.

Největší koncentrace NDEA byla nalezena v šaržích *Valsartanu 160mg* od společnosti Torrent Pharmaceuticals. V nejhorším zaznamenaném případě odpovídala expozice NDEA při MTD 1,22 µg. NDEA/den. [28] V tomto případě byla stanovena hodnota RCR  $\cong$  99. Takto vysoká hodnota také vede k opodstatněným obavám ohledně zdraví pacientů.

V druhé části **Tab. 2** jsou shrnuty dostupné informace o kontaminaci léčiv, které obsahují API Ranitidin nebo Nizatidin. Léčiva obsahující tyto API jsou podávána pacientům, u nichž je potřebné docílit snížení produkce žaludečních kyselin. Tento stav je žádoucí zejména při léčbě peptických vředů, gastroezofageálního refluxu a Zollinger-Ellisonova syndromu. [40] Součástí struktury Ranitidinu je nitro skupina, ale zároveň i sekundární a terciální aminová skupina. [41]

V léčivech této lékové skupiny byl nalezen pouze NDMA. V případě Ranitidinu dosud nebyly určeny přesné příčiny ani přesný mechanismus vzniku N-nitrosaminové kontaminace. I přes tuto skutečnost, bylo zjištěno, že Ranitidin vykazuje vysokou míru nestability, a to především při zvýšených teplotách. [42] NDMA se v Ranitidinu zformoval vlivem nestabilních teplotních podmínek, ke kterým mohlo dojít během skladování, manipulace či

procesu distribuce. Experimentálně bylo zjištěno, že hladiny NDMA se u některých léčiv na bázi Ranitidinu zvyšovaly i při pokojové teplotě (25 °C). [41]

V této skupině léčiv bylo největší množství NDMA nalezeno v šaržích *Rx Ranitidinu 300mg* společnosti Novitium. Prostřednictvím tohoto léčiva byl pacient při MTD vystaven expozici NDMA ve výši 0,86 µg/den (rok nálezů: 2019). [20] Získaná hodnota RCR  $\cong$  9 byla podstatně menší, než tomu bylo v případě RCR pro NDMA ve Valsartanu, přesto je však tato hodnota větší než 1. Také v tomto případě tedy může kontaminace léčiva daným N-nitrosaminem představovat určité nezanedbatelné zdravotní riziko.

Třetí část **Tab. 2** je věnována léčivům na bázi Metforminu, které jsou určeny ke snížení hladiny glukózy v krvi. V léčivech obsahujících API Metformin byl identifikován pouze jediný zástupce N-nitrosaminů a tím byl NDMA. [33] Z výsledků šetření vyplývá, že syntéza API Metforminu není primárním zdrojem kontaminace. Přesná příčina vzniku je stále předmětem výzkumu. [43]

Největší množství NDMA bylo nalezeno v *Rx Metforminu 500mg s prodlouženou dobou uvolňování* od společnosti Amneal (rok nálezů: 2020). [34] V případě nejvyšší míry kontaminace tohoto léčiva může být pacient při MTD exponován až 0,76 µg NDMA/den. V tomto případě je vypočtená hodnota RCR  $\cong$  8, což je srovnatelné s hodnotou RCR vypočtenou pro Ranitidin.

Poslední část **Tab. 2** se zabývá léčivy Rifampin a Rifapentin, což jsou antibakteriální přípravky používané k léčbě tuberkulózy. Rifampin lze navíc použít k léčbě nebo prevenci jiných vážných infekcí. MTD těchto léčiv je 600mg/den. Rifampin byl kontaminován 1-methyl-4-nitrosopiperazinem (MNP). V případě léčiv z této lékové skupiny byla nejvyšší míra kontaminace zaznamenána u *Rx Rifampinu 150 mg* společnosti Akorn. V případě užívání zmíněného léčiva na úrovni MTD mohl být denní příjem MNP až 2,08 µg MNP/den (rok nálezů: 2021). [36] V tomto případě dosahuje hodnota RCR  $\cong$  79 a tudíž i zde existuje reálné riziko, že v důsledku užívání takto kontaminovaného léčiva může dojít ohrožení zdraví pacienta.

Léčivý přípravek *Rx Rifapentin 150mg* společnosti Sanofi také patří mezi léčiva kontaminovaná N-nitrosaminy. V případě užívání MTD tohoto léčiva, z nejvíce kontaminovaného balení mohl denní příjem 1-cyklopentyl-4-nitrosopiperazinu (CPNP) dosahovat až 8,52 µg CPNP/den (rok nálezů: 2021). [36] V hotovém léčivu byla naměřená

koncentrace CPNP vyšší než jeho koncentrace v API, což ukazuje na kontaminaci v průběhu přípravy či balení finálního léčiva. [44]

Po vyhodnocení hodnot RCR v **Tab.2** bylo zjištěno, že léčiva ze skupiny sartanů vykazovala jednoznačně nejvyšší hodnoty RCR. Velmi vysoké hodnoty RCR byly také nalezeny pro léčiva ze skupiny antibakteriálních léčiv. V těchto případech pacientům hrozí opravdu závažná zdravotní rizika v důsledku užívání takto kontaminovaných léčiv, jelikož nalezené hodnoty RCR jsou extrémně vysoké.

Hodnoty RCR pro léčiva z lékové skupiny antagonistů receptoru histaminu-2 a antidiabetik si byly vzájemně velmi podobné a byly o několik řádů nižší než v předchozích případech. I přes tuto skutečnost jsou nejvyšší nalezené hodnoty RCR v těchto lékových skupinách léčiv vyšší než 1, což poukazuje na určitá zdravotní rizika. V těchto případech by bylo vhodné učinit ochranná opatření, která by vedla k minimalizaci N-nitrosaminového kontaminantu v léčivu čímž by byla následně zvýšena ochrana zdraví pacienta.

## 5 N-nitrosaminy v potravinách

Za významné zdroje N-nitrosaminů v rámci neprofesionální expozice jsou považovány potraviny. N-nitrosaminové kontaminanty se vyskytují v široké škále potravin. V potravinách mohou tyto karcinogeny vznikat jak během procesu výroby, tak i během následné přípravy jednotlivých potravin nebo také v důsledku nesprávného skladování či použití nevhodných obalových materiálů. N-nitrosaminy se v potravinách tvoří především během procesů sušení, uzení, anebo nakládání neboli konzervování pomocí dusitanů nebo dusičnanů. Zřejmý vliv na vznik N-nitrosaminů má používání dusíkatých hnojiv, pesticidů a herbicidů (viz kapitola 2.2). [45]

Evropský úřad pro bezpečnost potravin (European food safety authority-EFSA) je pověřeným orgánem Evropské unie (EU), který je zodpovědný za sledování a charakterizování rizik souvisejících s bezpečností potravin. Jeho úkolem je shromažďovat a analyzovat data o potravinách na úrovni EU. EFSA rovněž intenzivně spolupracuje s ostatními orgány EU, národními úřady členských států a vědeckými experty na danou problematiku.[46] Státní zemědělská a potravinářská inspekce je zodpovědná za kontrolu jakosti veškerých zemědělských potravin a produktů v České republice. [47]

### 5.1 Hodnocení kontaminace potravin N-nitrosaminy v zemích EU

Z databáze EFSA Comprehensive European Food Consumption Database (CEFCDB) byly shromážděny informace o individuální spotřebě potravin v jednotlivých zemích EU, s cílem odhadnout příjem N-nitrosaminů prostřednictvím potravin. Databáze CEFCDB obsahuje národní data o spotřebě potravin, která byla získána prostřednictvím opakovaných 24hodinových, 48hodinových, 3denních nebo 7denních záznamů o stravování. Data obsažená v této databázi poskytují komplexní informace o spotřebě jednotlivých typů potravin v rámci jednotlivých věkových kohort evropské populace včetně kojenců, batolat, dětí, dospělých, seniorů a seniorů nad 75 let. [48]

Získaná data o denní spotřebě jednotlivých potravin byla klasifikovaná podle kategorií definovaných v systému FoodEx2. Systém FoodEx2 je komplexní systém klasifikace a popisu potravin vyvinutý a spravovaný úřadem EFSA. Tento systém má hierarchickou strukturu a každá potravina v něm může být zařazena do jedné z 21 hlavních kategorií. Ze znalosti průměrné spotřeby jednotlivých kategorií potravin a znalosti obvyklé úrovně kontaminace

těchto potravin v rámci jednotlivých kategorií lze učinit odhad alimentární expozice N-nitrosaminům.[48]

Srovnáme-li takto zjištěnou úroveň expozice s hodnotami akceptovatelného příjmu (AI), můžeme podobně jako v případě léčiv získat hodnoty RCR a odhadnout tak úroveň zdravotního rizika spojeného s kontaminací potravin N-nitrosaminy. Použitím hodnot AI určených pro N-nitrosaminy v léčivech má v případě kontaminantů potravin tu nevýhodu, že je zanedbán vliv složek stravy na vstřebávání látek a pro většinu druhů potravin tak dojde k určitému nadhodnocení zdravotního rizika příslušných N-nitrosaminů. Na druhou stranu nám tento přístup umožní získat a porovnat hodnoty RCR v případech, kdy limitní hodnoty denního příjmu N-nitrosaminů z potravin nejsou jasně definovány.

## **5.2 Zdroje dat o úrovni kontaminace potravin N-nitrosaminy**

Souhrnné údaje o úrovni kontaminace potravin N-nitrosaminy lze nalézt v příslušných dokumentech EFSA. Tato organizace pracovala zejména se dvěma níže uvedenými zdroji informací.

### **5.2.1 Údaje o kontaminaci potravin z databáze EFSA**

Prvním zdrojem informací jsou souhrnné výsledky kontrolních měření, které byly EFSA poskytnuty inspekčními orgány čtyř zemí EU. Jednalo se celkem o 2817 údajů, které byly získány v letech 2003–2021 v České republice, Dánsku, Maďarsku a Německu. [48]

V rámci provedených měření bylo identifikováno celkem 10 zástupců N-nitrosaminů v potravinách zahrnutých do sedmi kategorií systému Foodex2. Měření zahrnovala potraviny z následujících kategorií systému Foodex2: alkoholické nápoje; káva, kakao, čaj; ryby, mořské plody, obojživelníci, plazi a bezobratlí; obilí a obilné produkty; maso a masné produkty; koření, omáčky a jiná dochucovadla; voda a nápoje na bázi vody. Uvedené potravinové kategorie obsahovaly osm genotoxických a dva negenotoxické N – nitrosaminy. Z genotoxických N-nitrosaminů byly v potravinách zachyceny následující N-nitrosaminy: NDMA, NDEA, N-nitrosoethylmethylamin (NMEA), N-nitrosodipropylamin (NDPA), N-nitrosodi-n-butylamin (NDBA), N-nitrosomorfolin (NMOR), N-nitrosopiperidin (NPIP) a N-nitrosodipyrrolidin (NPYR). Další dva N-nitrosaminy identifikované v potravinách, N-nitrosothiazolidin-4-karboxylová kyselina (NTCA) a N-nitroso-2-methyl-thiazolidin-4-karboxylová kyselina (NMTCA), nebyly zahrnuty do dalších úvah, neboť nepatří mezi genotoxické N-nitrosaminy. [48]

Ve výše zmíněných měřeních byl zaznamenán poměrně velký podíl tzv. zleva ořezaných dat (angl. left-censored data). Obecně to znamená, že přesnou hodnotu nějakého parametru neznáme, ale bezpečně víme, že je nižší než určitá hraniční hodnota. [48]

### **5.2.2 Údaje o kontaminaci potravin z odborné literatury**

Údaje o kontaminaci potravin z databáze EFSA byly rozšířeny o další data, která byla získána z důkladné literární rešerše. Pro výběr dostatečně kvalitních dat byla zvažována relevantnost 239 vědeckých prací vydaných mezi lety 1976-2021. Na základě řady kritérií bylo vybráno celkem 41 článků (z let 1990-2021), které byly použity pro další úvahy. Vybrané publikace poskytly informace o 3 976 analytických výsledcích pocházející z EU a 27 analytických výsledcích z oblastí mimo EU. Soubor analytických výsledků obsahoval informace o celkem 13 N–nitrosaminech detekovaných v potravinách. [48] Z genotoxických N-nitrosaminů bylo v potravinách identifikováno těchto 10 N-nitrosaminů: NDMA, NDEA, NDPA, NPIP, NPYR, N-nitroso-N-methylanilin (NMA), NDBA, NMOR, NMEA, N-nitrososarkosin (NSAR). Zbylé 3 N-nitrosaminy v podobě NTCA, NMTCA a N-nitrosoprolin (NPRO) nejsou považovány za genotoxické, a proto nebyly zohledněny v dalších úvahách.[48]



## 6 Expoziční scénáře pro odhad příjmu N-nitrosaminů z potravin

EFSA ze získaných souborů informací o zastoupení jednotlivých kategorií potravin v jídelníčku průměrného Evropana v daném věkovém rozmezí a ze znalostí o míře kontaminace potravin učinila odhad denního příjmu N-nitrosaminů z potravin. EFSA vytvořila dva expoziční scénáře, které zohledňovaly typické obsahy N-nitrosaminů v potravinách v některé z těchto pěti potravinových kategorií systému Foodex2: alkoholické nápoje; káva, kakao, čaj; ryby, mořské plody, obojživelníci, plazi a bezobratlí; maso a masné produkty; koření, omáčky a jiná dochucovadla. Pro stanovení denního příjmu N-nitrosaminů, spojeného s konzumací potravin odpovídajícím jednomu z výše uvedených expozičních scénářů, byla použita pouze data o 10 N-nitrosaminech, které jsou klasifikovány jako karcinogeny.

V materiálech EFSA jsou hodnoty denní dietární expozice každého z těchto N-nitrosaminů uvedeny ve třech úrovních – LB (lower bound), MB (medium bound) a UB (upper bound) – tedy dolní hranice, střední úroveň a horní hranice expozice. Tyto úrovně zohledňují extrémy v primárních datech, a to jak z pohledu naměřených koncentrací N-nitrosaminů v jednotlivých typech potravin, tak i z pohledu zastoupení jednotlivých potravin v příslušných spotřebních koších. Pro každou z těchto úrovní (LB, MB, UB) je pro každý z N-nitrosaminů tabelována minimální a maximální hodnota ( $LB_{\min}$ ,  $LB_{\max}$ ,  $MB_{\min}$ ,  $MB_{\max}$  a  $UB_{\min}$ ,  $UB_{\max}$ ). Tento způsob prezentace je celkem obtížně použitelný pro porovnání kontaminace potravin a léčiv. Z tohoto důvodu byly z uvedených dat pro každou úroveň (LB, MB, UB) vypočítány střední hodnoty denní expozice ( $\bar{X}$ ) a hranice 95 % intervalu spolehlivosti (95 % CI).

Pro MB je v materiálech EFSA odhadnuta  $\bar{X}$  každého z N-nitrosaminů a hodnota 95. percentilu<sup>1</sup> denního příjmu (P95) daného N-nitrosaminu.

V dalších kapitolách této práce bude pracováno výhradně se  $\bar{X}$ , P95 a s jejich 95 % CI pro odhadovanou MB pro dospělé jedince. V dalším textu tedy budou uvedeny  $\bar{X}$  a hodnoty P95 a jejich 95 % CI pro odhadovanou MB příslušnému N-nitrosaminu v rámci diskutovaného expozičního scénáře pro dospělého jedince. Zmíněné hodnoty byly získány přepočtem z hodnot  $MB_{\min}$  a  $MB_{\max}$  uvedených v příslušných dokumentech EFSA.

---

<sup>1</sup> Hodnota P95 představuje hranici, pod níž se vyskytuje 95 % dat v daném souboru.

Vedle úrovně expozice jednotlivým N-nitrosaminům jsou v dokumentech EFSA rovněž uvedeny úrovně celkové denní expozice pro všechny uvažované N-nitrosaminy. Hodnoty označené zkratkou TCNAs (Total Carcinogenic N-nitrosamines) charakterizují celkovou úroveň expozice všem detekovaným genotoxickým N-nitrosaminům, získanou prostým součtem denních příjmů jednotlivých analogů. TCNAs PF (Total Carcinogenic N-nitrosamines – Potency Factor) představuje úroveň celkového denního příjmu N-nitrosaminů zohledňující rozdílnou účinnost jednotlivých analogů, k čemuž slouží koeficient účinnosti (PF). PF má pro nejvíce genotoxické N-nitrosaminy (NDEA, NMEA, NDMA a NMOR) hodnotu 1. Pro méně karcinogenní analogy (NDPA, NDBA, NMA, NPYR a NSAR) byl PF stanoven poměrem hodnot  $BMDL_{10}^2$  (Benchmark dose level 10) a je roven 0,2. (**Rov. 7**). TCNAs PF je tedy vypočítán jako vážený součet příjmů jednotlivých N-nitrosaminů, kde funkci vah zastávaly výše zmíněné koeficienty účinnosti. [48]

$$PF = \frac{BMDL_{10} \text{ více genotoxických } N - \text{nitrosaminů}}{BMDL_{10} \text{ méně genotoxických } N - \text{nitrosaminů}}$$

$$PF = \frac{0,01}{0,062} = 0,16 \approx 0,2$$

**Rovnice 7:** Výpočet koeficientu účinnosti (PF)

## 6.1 Expoziční scénář 1 pro věkovou kategorii dospělých

V rámci expozičního scénáře 1 bylo hodnocení dietární expozice N-nitrosaminům založeno na všech 5 výše zmíněných kategoriích potravin systému FoodeEx2, s výjimkou vařeného nezpracovaného masa a ryb. Následující **Tab. 3** shrnuje vypočtené  $\bar{X}$  a 95 % CI pro MB jednotlivým N-nitrosaminům pro dospělé jedince, kteří jsou ve věku od 18 do 65 let. Do věkové kategorie dospělých byly zařazeny i těhotné a kojící ženy. Průměrné hodnoty chronické dietární expozice pro dospělé jedince jsou uvedeny v **Tab. 3** a byly vypočteny s použitím výsledků pocházejících z 22 studií. [48]

---

<sup>2</sup>  $BMDL_{10}$  neboli Benchmark dose level 10 – spodní hranice 95 % intervalu spolehlivosti křivky dávka-účinek pro dávku vyvolávající nádor u 10 % laboratorních zvířat v rámci *in-vivo* testu karcinogeneze

**Tabulka 3:** Denní příjem N-nitrosaminů z potravin expozičního scénáře 1

<b>Denní příjem N-nitrosaminů z potravin expozičního scénáře 1</b>				
<b>[µg/den]</b>				
<b>N-nitrosamin</b>	<b><math>\bar{X}</math></b>	<b>95 % CI</b>	<b>P95</b>	<b>95 % CI</b>
NDMA	0,045	0,024 – 0,066	0,150	0,086 – 0,214
NMEA	0,005	-	0,010	0,006 – 0,014
NDEA	0,038	0,018 – 0,057	0,130	0,062 – 0,198
NDPA	0,010	0,006 – 0,014	0,030	0,008 – 0,047
NDBA	0,043	0,023 – 0,062	0,170	0,08 – 0,26
NMA	0,08	0,005 – 0,010	0,018	0,007–0,029
NSAR	0,050	0,016–0,084	0,203	0,068-0,338
NMOR	0,023	0,008–0,037	0,100	0,032-0,168
NPIP	0,018	0,007 – 0,028	0,058	0,03-0,086
NPYR	0,035	0,014 – 0,056	0,135	0,067-0,203
<b>TCNAs</b>	<b>0,273</b>	<b>0,125 – 0,402</b>	<b>1,003</b>	<b>0,449-1,557</b>
<b>TCNAs PF</b>	<b>0,143</b>	<b>0,143 – 0,039</b>	<b>0,513</b>	<b>0,238-0,788</b>

Z hodnot uvedených v **Tab. 3** je zřejmé, že největší příspěvek na TCNAs stanovené z pohledu  $\bar{X}$  expozičního scénáře 1 mají následující N-nitrosaminy: NSAR (18,35 %), NDMA (16,51 %) a NDBA (15,60 %). Pokud by byla TCNAs vyjádřeny pomocí hodnot P95 je zřejmé, že největší vliv na TCNAs budou mít následující tři analogy: NSAR s podílem 20,2 %, NDBA s podílem 16,96 % a NDMA s podílem 14,96 %. Největší podíl na TCNAs PF mají tyto N-nitrosaminy: NDMA (31,6 % pro  $\bar{X}$  a 29,3 % pro P95), NDEA (26,3 % pro  $\bar{X}$  a 25 % pro P95) a NMOR (15,8 % pro  $\bar{X}$  a 19,5 % pro P95).

V případě expozičního scénáře 1 je odhadovaný TCNAs přibližně dvojnásobný ve srovnání s TCNA PF (TCNAs/TCNAs PF = 1,91 pro  $\bar{X}$  a 1,96 pro P95).

## 6.2 Expoziční scénář 2 použitý pro věkovou kategorii dospělých

V expozičním scénáři 2 bylo hodnocení dietární expozice N-nitrosaminům založeno na všech výše zmíněných kategoriích potravin systému FoodeX2 včetně vařeného nezpracovaného masa a ryb. Následující **Tab. 4** shrnuje vypočtené  $\bar{X}$  a 95 % CI pro MB jednotlivými N-nitrosaminy pro dospělé jedince ve věku od 18 do 65 let. Do věkové kategorie dospělých byly zahrnuty i těhotné a kojící ženy. Průměrné hodnoty chronické dietární expozice pro dospělé jedince jsou uvedeny v tabulce a byly vypočteny s použitím výsledků pocházejících z 22 studií. [48]

**Tabulka 4:** Denní příjem N-nitrosaminů z potravin expozičního scénáře 2

<b>Denní příjem N-nitrosaminů z potravin expozičního scénáře 2</b>				
<b>[µg/den]</b>				
<b>N-nitrosamin</b>	<b><math>\bar{X}</math></b>	<b>95 % CI</b>	<b>P95</b>	<b>95 % CI</b>
NDMA	0,150	0,116–0,184	0,340	0,259-0,421
NMEA	0,08	0,006–0,010	0,020	0,016-0,024
NDEA	0,73	0,049–0,097	0,188	0,122-0,254
NDPA	0,28	0,022–0,034	0,063	0,048-0,078
NDBA	0,065	0,044-0,086	0,193	0,105-5281
NMA	0,018	0,012–0,024	0,043	0,032-0,54
NSAR	0,138	0,089–0,187	0,375	0,251-499
NMOR	0,023	0,008–0,038	0,103	0,037-0,169
NPIP	0,118	0,077–0,159	0,268	0,186-0,334
NPYR	0,713	0,579–0,847	1,835	1,236-0,347
<b>TCNAs</b>	<b>1,330</b>	<b>0,997-1,663</b>	<b>3,425</b>	<b>2,292–4,558</b>
<b>TCNAs PF</b>	<b>0,47</b>	<b>0,342-0,594</b>	<b>1,205</b>	<b>0,804-1,606</b>

Z hodnot uvedených v **Tab. 4** je zřejmé, že největší podíl na TCNAs, stanové z  $\bar{X}$  jednotlivých N-nitrosaminů, mají následující N-nitrosaminy: NPYR (53,46 %); NDMA (11,24 %) a NSAR (10,34 %). Pokud je TCNAs odhadnuta z P95, největší vliv mají pak následující tři analogy: a to NPYR z 53,53 %, NSAR z 10,94 % a NDMA z 9,92 %. Největší podíl na TCNAs PF mají tyto tři N-nitrosaminy: NDMA (31,91 % pro  $\bar{X}$  a 28,22 % pro P95), NPYR (30,35 % pro  $\bar{X}$  a 30,46 % pro P95) a NDEA (15,53 % pro  $\bar{X}$  a 15,56 % pro P95).

V případě konzervativního odhadu TCNAs z potravin z expozičního scénáře 2 je tento odhad přibližně třikrát vyšší než v případě odhadu TCNAs PF. (TCNAs/TCNAs PF = 2,84 pro  $\bar{X}$  a 2,85 pro P95).

### 6.3 Srovnání expozičních scénářů

Srovnání celkových expozičních N-nitrosaminů v rámci jednotlivých expozičních scénářů (pro  $\bar{X}$  a P95) na základě dat, které jsou uvedeny v **Tab. 3** a **Tab. 4** lze usuzovat, že dospělý jedinec je prostřednictvím expozičního scénáře 1 vystaven nižšímu množství N-nitrosaminů než prostřednictvím expozičního scénáře 2. Porovnáním odhadů denních příjmů N-nitrosaminů z hlediska TCNAs (pro  $\bar{X}$ ), lze dojít k závěru, že TCNAs stanovená pro expoziční scénář 1 je téměř 5krát nižší než expozičního scénáře 2. Hodnota TCNAs na úrovni P95 je pro expoziční scénář 1 asi 3,4krát menší než pro expoziční scénář 2.

Z výše uvedených výsledků výpočtů vyplývá, že potraviny, které byly ve výpočtech vyjmuty v rámci expozičního scénáře 1 (konkrétně vařené nezpracované maso a ryby), mají podstatný podíl na celkovém příjmu N-nitrosaminů u dospělé populace v rámci EU.

Jestliže je v odhadovaném celkovém denním příjmu N-nitrosaminů zohledněna rozdílná účinnost jednotlivých analogů pomocí PF, lze dojít k závěrům, že TCNA PF (pro  $\bar{X}$ ) je 3,3krát nižší a hodnota TCNA PF (pro P95) je asi 2,3krát nižší pro expoziční scénář 1.

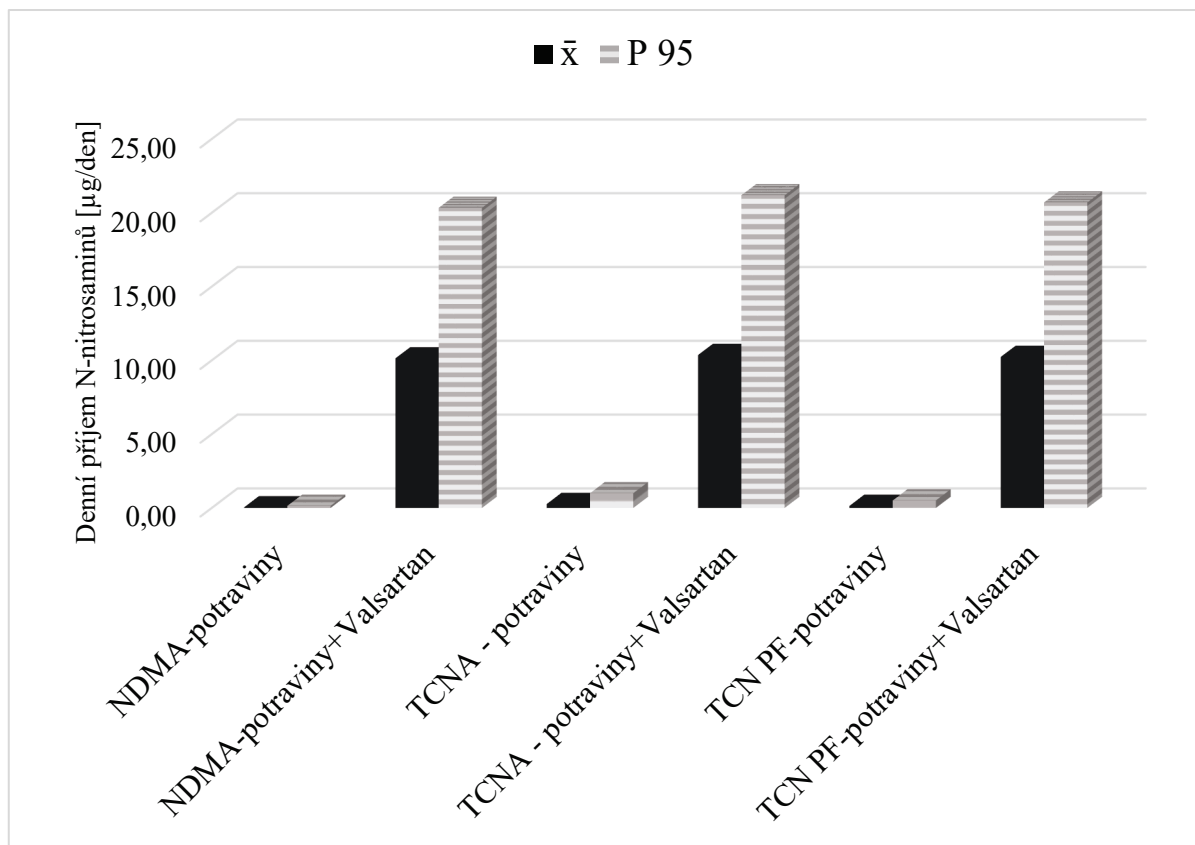
S ohledem na minimální rozdíl mezi poměry ( $\bar{X}$ ) a (P95) TCNA a TCNA PF s ohledem pro expoziční scénáře 1 a 2 (konkrétně 5 vs. 3,3 a 3,4 vs. 2,3), lze usoudit, že vařené nezpracované maso a ryby mají významný vliv zejména na příjem analogů s vyšší hodnotou PF tzn – NDMA, NDEA, NMOR a NMEA.

## 7 Kombinovaná expozice N-nitrosaminům z potravin a léčiv

V souvislosti s kapitolou 7 je třeba poznamenat, že v případě Valsartanu (ani ostatních léčiv) nebyly k dispozici údaje o počtu měření, z nichž byla získána minimální a maximální hodnota koncentrace NDMA. Z tohoto důvodu, nebylo možné korektně získat hodnoty 95 % CI pro  $\bar{X}$  a P95, pro denní příjem NDMA z léčiva. Za  $\bar{X}$  byl tak dosažen aritmetický průměr mezi minimální a maximální nalezenou hodnotou a za P95 pak maximální hodnota denního příjmu při MTD. Z toho vyplývá, že vliv léčiva na  $\bar{X}$  NDMA i na příjem na úrovni P95 může být mírně nadhodnocen.

### 7.1 Potraviny dle expozičního scénáře 1 a Valsartan

V kapitole 4 jsou uvedeny příklady léčiv ve kterém byla nalezena nadlimitní koncentrace některého z N-nitrosaminů. Největší zdravotní riziko, vyjádřené indexem RCR, představovalo užívání léčiva na vysoký krevní tlak. Největší množství NDMA bylo nalezeno konkrétně v šaržích *Valsartanu 320mg/HCTZ 25mg* společnosti Prinston Pharmaceutical. Tento přípravek obsahoval NDMA v koncentracích, které při užívání léčiva na úrovni MTD mohly vést k dennímu příjmu daného N-nitrosaminu v rozmezí od 0 do 20,19  $\mu\text{g}$  NDMA/den.



**Graf 1:** Denní příjem N-nitrosaminů v rámci expozičního scénáře 1 v kombinaci s užíváním Valsartanu

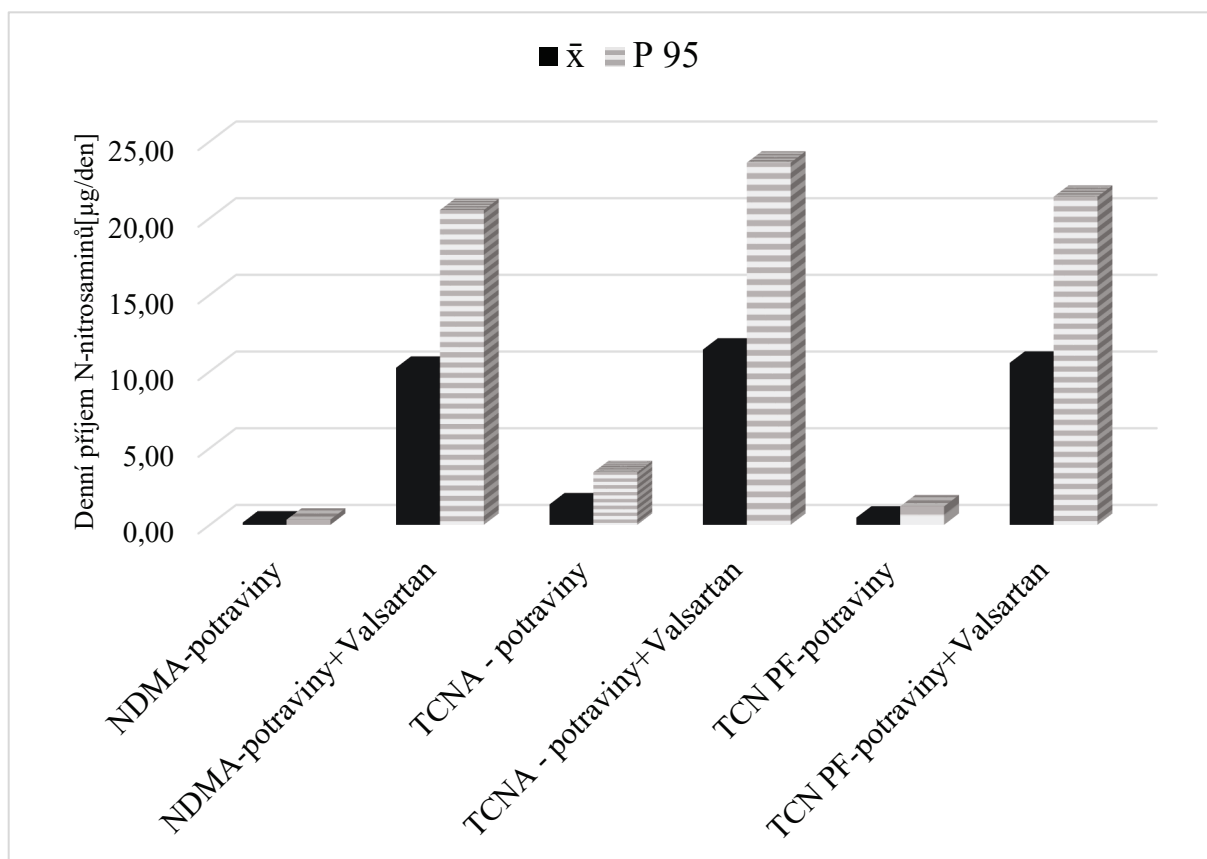
Jak je zřejmé z **Grafu 1**, bude-li pacient stravující se způsobem odpovídajícím expozičnímu scénáři 1 (viz. kapitola 6.1) užívat takto kontaminovaný Valsartan dojde k zvýšení  $\bar{X}$  NDMA zhruba 225krát a ke zvýšení P95 příjmu NDMA téměř 136krát. Z uvedených dat je tedy zřejmé, že užívání takto kontaminovaného léčiva může výrazně ovlivnit příjem tohoto konkrétního genotoxického N-nitrosaminu, a tedy i zdravotní stav pacienta velmi zásadním způsobem.

Pokud bude příjem NDMA z Valsartanu připočítán do odhadované TCNAs při  $\bar{X}$ , zvýší se TCNAs asi 38krát a při P95 dojde ke zvětšení tohoto parametru zhruba 21krát. V případě hodnot TCNAs PF při  $\bar{X}$ , bylo zjištěno, že započítáním příjmu NDMA z kontaminovaného Valsartanu do TCNAs PF dojde ke zvýšení daného parametru asi 72krát a u TCNAs PF hlediska P95 asi 40krát.

Z daných údajů vyplývá, že příjem vysoce genotoxických analogů N-nitrosaminů z léčiv se výrazně podílí na celkovém příjmu N-nitrosaminů u jedinců stravujících se v souladu s expozičním scénářem 1.

## 7.2 Potraviny dle expozičního scénáře 2 a Valsartan

Jak bylo již zmíněno v předchozím textu této práce, koncentrace NDMA nalezená v léčivu Valsartan se pohybovala v rozmezí 0 – 20,19  $\mu\text{g}$  NDMA/den. Nejvyšší množství bylo nalezeno ve *Valsartanu 320mg/HCTZ 25mg* společnosti Prinston Pharmaceutical.



**Graf 2:** Denní příjem N-nitrosaminů v rámci expozičního scénáře 2 v kombinaci s užíváním Valsartanu

Z **Grafu 2** je patrné, že pokud pacient užívá Valsartan obsahující nejvyšší možné množství NDMA a zároveň se stravuje podle vzoru expozičního scénáře 2 (viz kapitola 6.2), dochází u tohoto pacienta k výraznému nárůstu hodnoty  $\bar{X}$  NDMA, a to přibližně 67krát. Co se týče denního příjmu NDMA z hlediska hodnoty P95, dojde u tohoto pacienta k zvýšení příjmu zhruba 59krát.

Pokud bude množství NDMA z Valsartanu připočítáno k odhadované hodnotě TCNAs, zvýší se tato hodnota zhruba 10krát (pro  $\bar{X}$ ) a pro TCNAs (pro P95) přibližně 7krát (pro P95). Jestliže bude příjem NDMA z kontaminovaného Valsartanu započítán do celkového příjmu



N-nitrosaminů zohledňujícího rozdíly v genotoxicitě jednotlivých analogů (-tedy k TCNA PF), dojde k nárůstu daného parametru asi 22,5krát (pro  $\bar{X}$ ) a téměř 18krát (pro P95).

### 7.3 Zdravotní rizika spojená s kontaminací potravin a léčiv N-nitrosaminy

V **Tab. 5** jsou shrnuty hodnoty indexu RCR vypočtené pro příjem NDMA z potravin a souhrnně z potravin a Valsartanu, a dále hodnoty RCR spojené s TCNA a TCNA PF z potravin a souhrnně z potravin a Valsartanu pro oba expoziční scénáře. Je zřejmé, že ve všech případech ( $\bar{X}$ , P95) vede u osob stravujících se v souladu s expozičním scénářem 1 příjem NDMA z Valsartanu k několikanásobnému a někdy dokonce až k řádovému nárůstu zdravotního rizika. Na základě dat uvedených v **Tab. 5**, lze s jistotou konstatovat, že indexy RCR vypočítané pro všechny případy expozičního scénáře 2 ( $\bar{X}$  a P95) jsou vyšší než v případě expozičního scénáře 1. Obecně platí, že pokud je hodnota RCR  $\geq 1$ , znamená to, že příjem N-nitrosaminů přesáhl zanedbatelnou míru zdravotního rizika. Mezi mírou zdravotního rizika a hodnotou indexu RCR platí přímá úměra tzn. čím je hodnota RCR větší, tím je i zdravotní riziko závažnější.

**Tabulka 5:** Hodnoty indexu RCR pro příjem N-nitrosaminů z potravin a Valsartanu v rámci expozičního scénáře 1 a 2

	Expoziční scénář 1		Expoziční scénář 2	
	RCR ( $\bar{X}$ )	RCR (P95)	RCR ( $\bar{X}$ )	RCR (P95)
NDMA-potraviny	0,47	1,56	1,56	3,54
NDMA-potraviny+Valsartan	105,63	211,88	106,72	213,85
TCNA – potraviny	2,84	10,45	13,90	35,71
TCNA – potraviny+Valsartan	107,99	220,76	119,06	<b>246,02</b>
TCNA PF-potraviny	1,48	5,35	4,9	12,55
TCNAPF-potraviny+Valsartan	106,64	215,67	110,05	222,86

Po provedení porovnání RCR hodnot pro dvě modelové skupiny v rámci expozičního scénáře 1, konkrétně „*NDMA-potraviny+Valsartan*“ a „*NDMA-potraviny*“, bylo zjištěno, že užívání kontaminovaného Valsartanu významně zvyšuje zdravotní rizika. V tomto případě

se riziko zvýšilo přibližně 224,7krát (pro  $\bar{X}$ ) a 135,8krát (pro P95). Při srovnání odpovídajících RCR hodnot pro expoziční scénář 2 se zjistilo, že riziko vzniku zdravotních komplikací se zvýší zhruba 68,4krát (pro  $\bar{X}$ ) a 60,4krát (pro P95).

Ze srovnání výsledných hodnot RCR pro modelových skupin „*TCNA-potraviny*“ a „*TCNA-potraviny+Valsartan*“, lze vyvodit, že v případě expozičního scénáře 1 dojde v důsledku léčby Valsartanem, k nárůstu zdravotního rizika zhruba 38krát (pro  $\bar{X}$ ) a 21krát (pro P95). Porovnáním příslušných hodnot pro expoziční scénář 2 bylo zjištěno, že užívání Valsartanu zvyšuje riziko vzniku rakoviny asi 8,5krát ( $\bar{X}$ ) a přibližně 7krát ( $\bar{X}$ ) a

Ve srovnání následujících modelových skupin "*TCNAPF-potraviny+Valsartan*" a "*TCNA PF-potraviny*" bylo zjištěno, že v důsledku užívání Valsartanu došlo k významnému zvýšení zdravotního rizika v rámci expozičního scénáře 1, přibližně 72krát (pro  $\bar{X}$ ) a 40,3krát (pro P95). V případě expozičního scénáře 2, dojde u pacienta k nárůstu rizika vzniku nádorového onemocnění zhruba 22,4krát ( $\bar{X}$ ) a 17,8krát (P95).

Výsledky srovnání hodnot RCR provedených pro jednotlivé skupiny byly pro lepší přehlednost shrnuty do **Tab. 6** (viz. další strana).

**Tabulka 6:** Poměry RCR při konzumaci potravin a konzumaci potravin a Valsartanu

<b>Expoziční scénář 1</b>		<b>Expoziční scénář 2</b>	
$\frac{RCR \text{ potraviny} + \text{Valsartan}}{RCR \text{ potraviny}}$ <b>(<math>\bar{X}</math>)</b>	224,7	$\frac{RCR \text{ potraviny} + \text{Valsartan}}{RCR \text{ potraviny}}$ <b>(<math>\bar{X}</math>)</b>	68,4
$\frac{RCR \text{ potraviny} + \text{Valsartan}}{RCR \text{ potraviny}}$ <b>(P95)</b>	135,8	$\frac{RCR \text{ potraviny} + \text{Valsartan}}{RCR \text{ potraviny}}$ <b>(P95)</b>	60,4
$\frac{RCR \text{ TCNA} - \text{potraviny} + \text{Valsartan}}{RCR \text{ TCNA} - \text{potraviny}}$ <b>(<math>\bar{X}</math>)</b>	38,0	$\frac{RCR \text{ TCNA} - \text{potraviny} + \text{Valsartan}}{RCR \text{ TCNA} - \text{potraviny}}$ <b>(<math>\bar{X}</math>)</b>	8,5
$\frac{RCR \text{ TCNA} - \text{potraviny} + \text{Valsartan}}{RCR \text{ TCNA} - \text{potraviny}}$ <b>(P95)</b>	21,1	$\frac{RCR \text{ TCNA} - \text{potraviny} + \text{Valsartan}}{RCR \text{ TCNA} - \text{potraviny}}$ <b>(P95)</b>	6,9
$\frac{RCR \text{ TCNA PF} - \text{potraviny} + \text{Valsartan}}{RCR \text{ TCNA} - \text{potraviny}}$ <b>(<math>\bar{X}</math>)</b>	72,0	$\frac{RCR \text{ TCNA PF} - \text{potraviny} + \text{Valsartan}}{RCR \text{ TCNA} - \text{potraviny}}$ <b>(<math>\bar{X}</math>)</b>	22,5
$\frac{RCR \text{ TCNA PF} - \text{potraviny} + \text{Valsartan}}{RCR \text{ TCNA} - \text{potraviny}}$ <b>(P95)</b>	40,3	$\frac{RCR \text{ TCNA PF} - \text{potraviny} + \text{Valsartan}}{RCR \text{ TCNA} - \text{potraviny}}$ <b>(P95)</b>	17,8

## 8 Závěr

Na základě provedené podrobné literární rešerše bylo zjištěno, že nejvyšší množství N-nitrosaminu, konkrétně NDMA, bylo zaznamenáno pro léčivo *Valsartan 320mg společnosti Prinston Pharmaceutical*. V extrémních případech pacient mohl být při MTD vystaven dávce až 20,19  $\mu\text{g}$  NDMA/den. Dlouhodobé užívání tohoto léčiva tedy představuje nejhorší možný scénář expozice N-nitrosaminům prostřednictvím léčiv.

V kapitole 7 této práce jsou uvedeny výsledky porovnání zdravotních rizik spojených s užíváním léčiva Valsartanu kontaminovaného N-nitrosaminu a zdravotních rizik souvisejících s konzumací potravin kontaminovaných N-nitrosaminu. Z provedených výpočtů je zřejmé, že užíváním Valsartanu dochází k zásadnímu navýšení celkového denního příjmu N-nitrosaminů (TCNAs a TCNAs PF) a tím k zásadnímu nárůstu zdravotních rizik. Míru nárůstu těchto rizik (poměr RCR v případě konzumace potravin a souběžné konzumace potravin a kontaminovaného Valsartanu) odráží data shrnutá v **Tab. 6** práce. V závislosti na zvoleném expozičním scénáři a způsobu hodnocení expozice může užívání N-nitrosaminu kontaminovaného Valsartanu zvýšit zdravotní riziko zhruba 7krát až 225krát oproti riziku spojenému s konzumací potravin kontaminovaných N-nitrosaminu.

Z výše uvedených skutečností vyplývá, že léčiva mohou být velmi významným zdrojem expozice N-nitrosaminům a kontrola a regulace jejich výskytu v nich je významnou součástí prevence vzniku nádorových onemocnění.

## 9 Použitá literatura

- [1] EUROPEAN COMMISSION. *OPINION ON the Presence and Release of Nitrosamines and Nitrosatable Compounds from Rubber Balloons*, [online]. 18. 12. 2007 [cit. 15. 6. 2023]. Dostupné z: [https://ec.europa.eu/health/ph\\_risk/committees/04\\_sccp/docs/sccp\\_o\\_121.pdf](https://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_121.pdf)
- [2] NTP (Nation Toxicology Program). *Report on Carcinogens, Fourteenth Edition. U.S.: N-Nitrosamines: 15 Listings* [online]. 21. 12. 2021 [cit. 15. 6. 2023]. Dostupné z: <https://ntp.niehs.nih.gov/sites/default/files/ntp/roc/content/profiles/nitrosamines.pdf>
- [3] ANSELME, Jean-Pierre. *N-nitrosamines: based on a symposium presented at the eighth northeast regional meeting of the American Chemical Society, Boston, Massachusetts, June 25-28, 1978*. Washington: American Chemical Society, 1979. ISBN 978-0-8412-0503-1.
- [4] PATEL, Ashok B., Ashish H. ASNANI, Amitkumar J. VYAS, Nilesh K. PATEL, Ajay I. PATEL a Arvind N. LUMBHANI. A Brief Review on Genotoxic impurities in Pharmaceuticals. *Asian Journal of Pharmaceutical Research* [online]. 2021, 187–193 [cit. 6. 7. 2023]. ISSN 2231-5691, 2231-5683. Dostupné z: doi:10.52711/2231-5691.2021.00034
- [5] PONTING, David J., Krista L. DOBO, Michelle O. KENYON a Amit S. KALGUTKAR. Strategies for Assessing Acceptable Intakes for Novel *N* -Nitrosamines Derived from Active Pharmaceutical Ingredients. *Journal of Medicinal Chemistry* [online]. 2022, **65**(23), 15584–15607 [cit. 5. 6. 2023]. ISSN 0022-2623, 1520-4804. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jmedchem.2c01498
- [6] THRESHER, Andrew, Robert FOSTER, David J. PONTING, Susanne A. STALFORD, Rachael E. TENNANT a Robert THOMAS. Are all nitrosamines concerning? A review of mutagenicity and carcinogenicity data. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* [online]. 2020, **116**, 104749 [cit. 5. 6. 2023]. ISSN 02732300. Dostupné z: doi:10.1016/j.yrtph.2020.104749

- [7] HECHT, S. S. Approaches to Cancer Prevention Based on an Understanding of N-Nitrosamine Carcinogenesis. *Experimental Biology and Medicine* [online]. 1997, **216**(2), 181–191 [cit. 7. 4. 2023]. ISSN 1535-3702, 1535-3699. Dostupné z: doi:10.3181/00379727-216-44168
- [8] LI, Yupeng a Stephen S. HECHT. Metabolic Activation and DNA Interactions of Carcinogenic N-Nitrosamines to Which Humans Are Commonly Exposed. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2022, **23**(9), 4559 [cit 7. 7. 2023]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms23094559
- [9] BOSZKO, Karina, et. al. *N-nitrosamines in Drug Products: Overview, Challenges and Lessons Learned from an API Manufacturer's Perspective*. In: *DCAT Value Chain Insights* [online]. 10. 3. 2020 [cit. 8. 7. 2023]. Dostupné z: <https://www.dcatvci.org/sponsored/n-nitrosamines-in-drug-products-overview-challenges-and-lessons-learned-from-an-api-manufacturers-perspective/>
- [10] AKKARAJU, Harshita, Ritik TATIA, Sayalee Sanjay MANE, Amol B. KHADE a Swapnil J. DENGALÉ. A comprehensive review of sources of nitrosamine contamination of pharmaceutical substances and products. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* [online]. 2023, **139**, 105355 [cit. 7. 4. 2023]. ISSN 02732300. Dostupné z: doi:10.1016/j.yrtph.2023.105355
- [11] GRODOWSKA, Katarzyna a Andrzej PARCZEWSKI. Organic solvents in the pharmaceutical industry. *Acta Poloniae Pharmaceutica*. 2010, **67**(1), 3–12. ISSN 0001-6837.
- [12] eský lékopis. *Zbytková rozpouštědla* [online]. 1999 [cit. 15. 6. 2023]. Dostupné z: [http://www.lekopis.cz/Kap\\_5\\_4.htm](http://www.lekopis.cz/Kap_5_4.htm)
- [13] EMA (European Medicines Agency). *ICH guideline Q3C (R6) on impurities: guideline for residual solvents* [online]. 9. 8. 2019 [cit. 5. 7. 2023]. Dostupné z: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human-use\\_en-33.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human-use_en-33.pdf)

- [14] ABOAGYE, Emmanuel A., John D. CHEA a Kirti M. YENKIE. Systems level roadmap for solvent recovery and reuse in industries. *iScience* [online]. 2021, **24**(10), 103114 [cit. 7. 4. 2023]. ISSN 25890042. Dostupné z: doi:10.1016/j.isci.2021.103114
- [15] EMA (European Medicines Agency). *NOTE FOR GUIDANCE ON QUALITY OF WATER FOR PHARMACEUTICAL USE* [online]. 2002 [cit. 15. 6. 2023]. Dostupné z: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/note-guidance-quality-water-pharmaceutical-use\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/note-guidance-quality-water-pharmaceutical-use_en.pdf)
- [16] ASHWORTH, Ian W., Olivier DIRAT, Andrew TEASDALE a Matthew WHITING. Potential for the Formation of N-Nitrosamines during the Manufacture of Active Pharmaceutical Ingredients: An Assessment of the Risk Posed by Trace Nitrite in Water. *Organic Process Research & Development* [online]. 2020, **24**(9), 1629–1646 [cit. 5. 7. 2023]. ISSN 1083-6160, 1520-586X. Dostupné z: doi:10.1021/acs.oprd.0c00224
- [17] KRASNER, Stuart W., William A. MITCH, Daniel L. MCCURRY, David HANIGAN a Paul WESTERHOFF. Formation, precursors, control, and occurrence of nitrosamines in drinking water: A review. *Water Research* [online]. 2013, **47**(13), 4433–4450 [cit. 7. 4. 2023]. ISSN 00431354. Dostupné z: doi:10.1016/j.watres.2013.04.050
- [18] GOLOB, Nejc, Rok GRAHEK, Malcolm ROSS a Robert ROŠKAR. Nitrocellulose blister material as a source of N-nitrosamine contamination of pharmaceutical drug products. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2022, **618**, 121687 [cit. 7. 4. 2023]. ISSN 03785173. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijpharm.2022.121687
- [19] EMA (European Medicines Agency). *Questions and answers for marketing authorisation holders/applicants on the CHMP Opinion for the Article 5(3) of Regulation (EC) No 726/2004 referral on nitrosamine impurities in human medicinal products* [online]. 2023 [cit. 15. 6. 2023]. Dostupné z: [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](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)

- [20] FDA (US Food and Drug Administration). *Laboratory Tests | Ranitidine* [online]. 1. 11. 2019 [cit. 15. 6. 2023]. Dostupné z: <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/laboratory-tests-ranitidine>
- [21] DR. TABREZ SHAIKH, DR. AMIT GOSAR a DR. HUSSAIN SAYYED. *Nitrosamine Impurities in Drug Substances and Drug Products* [online]. Journal of Advances in Pharmacy Practices, 2020, 2(1) [cit. 7. 4. 2023]. Dostupné z: doi:10.5281/ZENODO.3629095
- [22] FDA (US Food and Drug Administration). *FDA Updates and Press Announcements on Nitrosamine in Varenicline (Chantix)*, [online]. 5. 5. 2022 [cit. 8. 7. 2023]. Dostupné z: <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-updates-and-press-announcements-nitrosamine-varenicline-chantix>
- [23] PRZBYLA, JENINIFER, ET. AL. Toxicological Profile for N-Nitrosodimethylamine (NDMA): draft for public comment. nedatováno, 2022.
- [24] IARC, Agents classified by the IARC Monographs, Volumes 1-133 [online, cit. 2023-07-10]. Dostupné z: <https://monographs.iarc.who.int/list-of-classifications>
- [25] EMA (European Medicines Agency). *Assesment Report: Referral under Article 31 of Directive 2001/83/EC angiotensin-II-receptor antagonists (sartans) containing a tetrazole group* [online]. 14. 2. 2019 [cit. 15. 6. 2023]. Dostupné z: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/variation-report/angiotensin-ii-receptor-antagonists-sartans-article-31-referral-chmp-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/variation-report/angiotensin-ii-receptor-antagonists-sartans-article-31-referral-chmp-assessment-report_en.pdf)
- [26] POTTEGÅRD, Anton, Kasper Bruun KRISTENSEN, Martin Thomsen ERNST, Nanna Borup JOHANSEN, Pierre QUARTAROLO a Jesper HALLAS. Use of N-nitrosodimethylamine (NDMA) contaminated valsartan products and risk of cancer: Danish nationwide cohort study. *BMJ* [online]. 2018, k3851 [cit. 7. 4. 2023]. ISSN 0959-8138, 1756-1833. Dostupné z: doi:10.1136/bmj.k3851



- [27] EMA (European Medicines Agency). *Assessment Report Procedure under Article 5(3) of Regulation EC (No) 726/2004, Nitrosamine impurities in human medicinal* [online]. 25. 7. 2020 [cit. 15. 6. 2023]. Dostupné z: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/nitrosamines-emea-h-a53-1490-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/nitrosamines-emea-h-a53-1490-assessment-report_en.pdf)
- [28] FDA (US Food and Drug Administration). *Laboratory analysis of valsartan products*, [online]. 2. 5. 2019 [cit. 15. 6. 2023]. Dostupné z: <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/laboratory-analysis-valsartan-products>
- [29] BINGHAM, Eula a Barbara COHRSEN. Specific Chemicals. In: *Patty's Toxicology (6th Edition) Volumes 1-6* [online]. B.m.: John Wiley & Sons, nedatováno, s. 411–412. ISBN 978-0-470-41081-3. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00A6OOC4/pattys-toxicology-6th/specific-chemicals>
- [30] N-Nitrosodiethylamine. *The Merck Index\* online*[online]. Whitehouse Station (New Jersey): Royal Society of Chemistry, ©2022. [cit. 9. 7. 2023]. Dostupné z: <https://merckindex.rsc.org/monographs/m7993>
- [31] VERNA, L. N-Nitrosodiethylamine mechanistic data and risk assessment: Bioactivation, DNA-adduct formation, mutagenicity, and tumor initiation. *Pharmacology & Therapeutics* [online]. 1996, **71**(1–2), 57–81 [cit. 7.4. 2023]. ISSN 01637258. Dostupné z: doi:10.1016/0163-7258(96)00062-9
- [32] FDA (US Food and Drug Administration). *Information about Nitrosamine Impurities in Medications*, [online]. 18. 11. 2021 [cit. 9. 7. 2023]. Dostupné z: <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/information-about-nitrosamine-impurities-medications>
- [33] VERDONCK, Frederik Am, Astrid SOUREN, Marjolein Ba VAN ASSELT, Patrick A VAN SPRANG a Peter A VANROLLEGHEM. Improving uncertainty analysis in european union risk assessment of chemicals: Uncertainty in EU Risk Assessment. *Integrated Environmental Assessment and Management* [online]. 2007, **3**(3), 333–343 [cit. 3. 7. 2023]. ISSN 15513777. Dostupné z: doi:10.1002/ieam.5630030304

- [34] FDA (US Food and Drug Administration). *Laboratory Tests | Metformin*, [online]. 5. 6. 2020 [cit. 15. 6. 2023]. Dostupné z: <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/laboratory-tests-metformin>
- [35] EMA (European Medicines Agency). *Information on nitrosamines for marketing authorisation holders* [online]. 19. 9. 2019 [cit. 5. 7. 2023]. Dostupné z: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/nitrosamines-emea-h-a53-1490-information-nitrosamines-marketing-authorisation-holders-obsolete\\_.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/nitrosamines-emea-h-a53-1490-information-nitrosamines-marketing-authorisation-holders-obsolete_.pdf)
- [36] FDA (US Food and Drug Administration). *Laboratory analysis of rifampin/rifapentine products*, [online]. 28. 1. 2021 [cit. 15. 6. 2023]. Dostupné z: <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/laboratory-analysis-rifampinrifapentine-products>
- [37] BHARATE, Sonali S. Critical Analysis of Drug Product Recalls due to Nitrosamine Impurities. *Journal of Medicinal Chemistry* [online]. 2021, **64**(6), 2923–2936 [cit. 7. 4. 2023]. ISSN 0022-2623, 1520-4804. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jmedchem.0c02120
- [38] SALIM, Hamisha a Alan M. JONES. Angiotensin II receptor blockers (ARBs) and manufacturing contamination: A retrospective National Register Study into suspected associated adverse drug reactions. *British Journal of Clinical Pharmacology* [online]. 2022, **88**(11), 4812–4827 [cit. 7. 4. 2023]. ISSN 0306-5251, 1365-2125. Dostupné z: doi:10.1111/bcp.15411
- [39] ROSE, Ulrich. European Pharmacopoeia Activities on Control of Nitrosamines and other DNA-Reactive Impurities. *Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2023, **112**(5), 1163–1165 [cit. 24. 4. 2023]. ISSN 00223549. Dostupné z: doi:10.1016/j.xphs.2022.11.015
- [40] BROGDEN, R.N., A.A. CARMINE, R.C. HEEL, T.M. SPEIGHT a G.S. AVERY. Ranitidine: A Review of its Pharmacology and Therapeutic Use in Peptic Ulcer Disease and Other Allied Diseases. *Drugs* [online]. 1982, **24**(4), 267–303 [cit. 9. 7. 2023]. ISSN 0012-6667. Dostupné z: doi:10.2165/00003495-198224040-00002

- [41] ALDAWSARI, Fahad S., Yahya M. ALSHEHRI a Thamer S. ALGHAMDI. N-nitrosodimethylamine (NDMA) Contamination of Ranitidine Products: A review of recent findings. *Journal of Food and Drug Analysis* [online]. 2021, **29**(1), 39–45 [cit. 7. 4. 2023]. ISSN 2224-6614. Dostupné z: doi:10.38212/2224-6614.1133
- [42] TERAOKA, Reiko, Makoto OTSUKA a Yoshihisa MATSUDA. Effects of Temperature and Relative Humidity on the Solid-State Chemical Stability of Ranitidine Hydrochloride. *Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 1993, **82**(6), 601–604 [cit.15. 4. 2023]. ISSN 00223549. Dostupné z: doi:10.1002/jps.2600820611
- [43] FDA (US Food and Drug Administration). Questions and Answers: NDMA impurities in metformin products. *FDA* [online]. 3. 9. 2020 [cit. 9. 7. 2023]. Dostupné z: <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/questions-and-answers-ndma-impurities-metformin-products>
- [44] CLOËZ, Sandrine a Mike FRICK. N-nitrosamines and Tuberculosis [online]. 2021[cit. 9. 7. 2023]. Dostupné z: [https://www.treatmentactiongroup.org/wp-content/uploads/2021/02/nitrosamine\\_technical\\_brief\\_2021.pdf](https://www.treatmentactiongroup.org/wp-content/uploads/2021/02/nitrosamine_technical_brief_2021.pdf)
- [45] MIROSLAV.FRANK. *Nitrosaminy* [online]. 2022 [cit.9. 7. 2023]. Dostupné z: <https://bezpecnostpotravin.cz/termin/nitrosaminy/>
- [46] Wikipedie: Otevřená encyklopedie: Evropský úřad pro bezpečnost potravin [online]. c2021 [cit. 1. 6. 2023]. Dostupný z: <[https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Evropsk%C3%BD\\_%C3%BA%C5%99ad\\_pro\\_bezpe%C4%8Dnost\\_potravin&oldid=20432475](https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Evropsk%C3%BD_%C3%BA%C5%99ad_pro_bezpe%C4%8Dnost_potravin&oldid=20432475)>
- [47] Český rozhlas. *Bezpečné a kvalitní potraviny. Kdo nám za ně ručí?* [online]. 2017 [cit. 9. 7. 2023]. Dostupné z: <https://plzen.rozhlas.cz/bezpecne-a-kvalitni-potraviny-kdo-nam-za-ne-ruci-6717713>

- [48] EFSA PANEL ON CONTAMINANTS IN THE FOOD CHAIN (EFSA CONTAM PANEL), Dieter SCHRENK, Margherita BIGNAMI, Laurent BODIN, James Kevin CHIPMAN, Jesús DEL MAZO, Christer HOGSTRAND, Laurentius (RON) HOOGENBOOM, Jean-Charles LEBLANC, Carlo Stefano NEBBIA, Elsa NIELSEN, Evangelia NTZANI, Annette PETERSEN, Salomon SAND, Tanja SCHWERDTLE, Christiane VLEMINCKX, Heather WALLACE, Benigni ROMUALDO, Cristina FORTES, Stephen HECHT, Marco IAMMARINO, Olaf MOSBACH-SCHULZ, Francesca RIOLO, Anna CHRISTODOULIDOU a Bettina GRASL-KRAUPP. Risk assessment of N-nitrosamines in food. *EFSA Journal* [online]. 2023, **21**(3) [cit.16. 6. 2023]. ISSN 18314732, 18314732. Dostupné z: doi:10.2903/j.efsa.2023.7884