

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri
FACULTE DE MEDECINE
TIZI OUZOU



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة مولود معمري
كلية الطب
تيزي وزو

Département de Pharmacie
N° D'ordre :

٢٠٢٤/٢٠٢٣

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
Présenté sous forme d'article et soutenu publiquement
En vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie

Le : 20/06/2024

Sous le Thème

THÈME

**Analyse des risques de présence d'impuretés N-Nitrosamines dans les produits finis
pharmaceutiques**

Réalisé par :

BENZID Tiziri

Pr/Dr/Mr-Mme NOM.P	GRADE	LIEU D'EXERCICE	Président/Examinateur
Pr. HADHOUM	MCA en chimie thérapeutique	UMMTO	PRESIDENTE
Pr. MAMOU	Rapporteur	UMMTO	
Dr. BEN SI SAID	MAHU en chimie analytique	UMMTO	EXAMINATEUR
Dr. REZIG	Co- rapporteur	BIOPHARM	
Mme. AKBI	Co- rapporteur	BIOPHARM	

ANNEE UNIVERSITAIRE :2023/2024

Résumé :

En 2018, les autorités de santé européennes ont été alertées sur des niveaux élevés de N-Nitrosodiméthylamine (NDMA) détectés dans le Valsartan fabriqué par Zhejiang Huahai Pharmaceutical en raison de déviations des Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF). Cet incident a entraîné le rappel généralisé du Valsartan et d'autres médicaments à base de sartans dans l'UE. Les réponses réglementaires ont inclus l'établissement de limites légalement contraignantes pour la NDMA et la N-Nitrosodiéthylamine (NDEA), ainsi que la suspension des Certificats de Conformité (CEP) pertinents. Bien que la plupart des médicaments aient montré des impuretés minimales ou nulles, des évaluations rigoureuses des risques ont révélé des dangers potentiels de carcinogénéicité liés à l'exposition à la NDMA, ciblant principalement le foie et, à des doses plus élevées, les reins.

Cette étude aborde la réponse initiale insuffisante à la détection des nitrosamines et souligne la nécessité de mesures d'évaluation et de contrôle rigoureuses. Une évaluation des risques a été réalisée pour quatre produits, en utilisant les principes définis dans l'ICH Q9. Les méthodologies comprenaient des outils de gestion des risques et une conformité réglementaire pour assurer la sécurité, la qualité et l'efficacité des produits.

Les résultats ont indiqué une probabilité faible de présence d'impuretés de nitrosamines dans les médicaments étudiés, validant ainsi l'efficacité des stratégies d'évaluation des risques. Cette recherche met en évidence le rôle crucial des évaluations continues des risques et de la conformité réglementaire pour garantir la sécurité pharmaceutique dans un contexte de normes mondiales en évolution.

Mots clés : Nitrosamines, NDMA, Cancérogénicité , ICHQ9, Evaluation des risques, impuretés.

Abstract :

In 2018, European health authorities were alerted to high levels of N-Nitrosodimethylamine (NDMA) detected in Valsartan manufactured by Zhejiang Huahai Pharmaceutical due to deviations from Good Manufacturing Practices (GMP). This incident led to the widespread recall of Valsartan and other sartan-based medications in the EU. Regulatory responses included the establishment of legally binding limits for NDMA and N-Nitrosodiethylamine (NDEA), as well as the suspension of relevant Certificates of Suitability (CEPs). While most drugs showed minimal or no impurities, rigorous risk assessments revealed potential carcinogenic risks associated with NDMA exposure, primarily targeting the liver and, at higher doses, the kidneys.

This study addresses the initially inadequate response to nitrosamine detection and underscores the need for rigorous assessment and control measures. Risk assessments were conducted for four products using principles defined in ICH Q9. Methodologies included risk management tools and regulatory compliance to ensure product safety, quality, and efficacy.

Results indicated a low probability of nitrosamine impurity presence in the studied medications, validating the effectiveness of risk assessment strategies. This research highlights the crucial role of ongoing risk assessments and regulatory compliance in ensuring pharmaceutical safety amidst evolving global standards.

Keywords: Nitrosamines, NDMA, Carcinogenicity, ICHQ9, Risk Assessment, Impurities.

1. Introduction

En 2018, les autorités de santé de l'Union Européenne furent informées que le fabricant chinois Zheijang Huahai Pharmaceutical avait détecté des niveaux préoccupants de N-Nitrosodiméthylamine (NDMA), probablement cancérigène pour l'homme (1-2),(22). Dans la fabrication de Valsartan, en raison de déviations des Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) (3). Notamment l'approbation en novembre 2011 d'un changement de processus sans évaluation adéquate des impuretés mutagènes. Actuellement aucune exigence d'évaluation similaire relative au produit finis pharmaceutiques n'est en place en Algérie, c'est pourquoi nous avons choisi de la réaliser pour quatre produits partenaires (Tableau 01).

Conformément à l'article 5, chapitre III du règlement (CE) N°726/2004, le comité des médicaments à usage humain (CHMP) a examiné les médicaments contenant cette substance active ainsi que ceux à base de Candésartan, Irbésartan, Losartan et Olmésartan (1), (4-7), (25-29). La Commission européenne a reçu son avis, et a pris des décisions juridiquement contraignantes applicables dans tous les États membres de l'UE entre le 2 avril 2019 et le 31 décembre 2021 (7), (30-31), (36). Sur un total de 125 CEP Sartans, 07 CEP Valsartan, 2 CEP Irbésartan et 2 CEP Losartan ont été suspendus, entraînant le rappel des médicaments concernés (12). Pour leurs grandes majorités aucune impureté n'a été détectée ou, si présente, elle l'était en quantités très faibles (32). Des limites ont été instaurées pour une période transitoire de deux ans et à l'issue de cette dernière, une limite maximale de 0.003 ppm a été établie pour la NDMA et la NDEA (2), (36). Cependant l'un des constats les plus inquiétants concerne la réponse insuffisante à cette détection (3). L'évaluation du risque associé aux impuretés dans le Valsartan de Zheijang Huahai a révélé que pour 100 000 patients prenant quotidiennement la dose maximale

pendant 6 ans, 22 cas de cancer pourraient survenir (32). Pour ces raisons une attention particulière doit être accordée à ces impuretés. Actuellement aucune exigence d'évaluation similaire relative au produit finis pharmaceutiques n'est en place en Algérie, c'est pourquoi nous avons choisi de la réaliser pour quatre produits partenaires (Tableau 01). En plus des Sartans, des directives ont été émises pour la Rifampicine; Une enquête examina la présence de nitrosamines dans les médicaments à base de metformine après des découvertes dans l'UE; La Ranitidine a été suspendu pour cause de NDMA dans certains de ces produits et le Champix a été rappelé et sa distribution arrêtée depuis juin 2021 à cause de la N nitroso-varénicline (9) (17-18-19-20).

La NDMA est probablement et ou raisonnablement susceptible d'être cancérigène pour l'homme (2), (38). Sa base de données couvrant 16 espèces animales est pratiquement inégale pour tout autre type de cancérigène (40). En effet sa capacité mutagène et génotoxique est largement documentée (41). Les dommages à l'ADN sont détectables dans les tissus métaboliquement actifs et la réparation de l'ADN in vivo peut être suivie (42). Son effet est significatif, ciblant principalement le foie où elle est principalement activée en intermédiaires réactifs par la P450 2E1 (43). Elle peut également induire des tumeurs rénales à fortes doses (48). Lorsque le groupe méthyle subit une oxydation (hydroxylation α -méthyle), cela génère la α -hydroxy NDMA, instable et mutagène. Cette transformation produit deux espèces réactives, dont le diazohydroxyde de méthyle, formant spontanément l'ion méthyldiazonium hautement électrophile (44). Capable d'induire des adduits méthylés sur l'ADN, provoquant la méthylation de l'ARN et l'ADN in vivo, conduisant ainsi à la formation de la 7-méthylguanine, une guanine

anormalement modifiée (46). Il est probable que la méthylation des acides nucléiques puisse se produire dans le foie et dans tout autre organes capables de N-déméthylation du composé, les adduits N7-guanine sont fréquemment formés, mais sont chimiquement instables, cependant ils sont d'excellents bio marqueurs (47). La présence de 6-Méthylguanine dans l'ADN du rat s'est révélée fortement corrélée à l'induction de néoplasmes rénaux par la diméthylnitrosamine. À des expositions élevées, le système de réparation de l'O6-méthyltransférase (O6MT), une enzyme qui agit de façon spécifique en transférant le groupe alkyle à la protéine elle-même, est épuisé. Compte tenu de la gravité de la NDMA pour la santé publique, des modèles animaux sont actuellement utilisés pour approfondir la compréhension des mécanismes d'action de la (49).

2- Matériel et méthodes

Les autorités sanitaires européennes exigent une évaluation basée sur les risques

pour tous les produits du marché. Ce processus évolutif doit être mis à jour en fonction des nouvelles connaissances sur les matières premières ou des modifications du processus, afin de garantir la sécurité, la qualité et l'efficacité des médicaments. Pour répondre à ces exigences, nous avons appliqué les principes de gestion des risques qualité de l'ICH Q9. (60) (64)

2-1 Initiation

Dans l'introduction de cet article, nous avons défini le problème et la question du risque, nous avons rassemblé les données contextuelles ainsi que celles concernant l'impact des dangers potentiels et des dommages liés à l'évaluation des risques.

2-2 Appréciation

Une description précise des risques en amont facilite la sélection de l'outil approprié pour l'évaluation. (Voir figure 1)

Tableau I : Médicament concernés par l'étude et leur classe thérapeutique.

Médicament	Classe thérapeutique et forme pharmaceutique
1	ARA II en comprimé
2	Analgésique et antipyrétique en comprimé
3	Décongestionnant à action systémique en comprimé
4	AINS

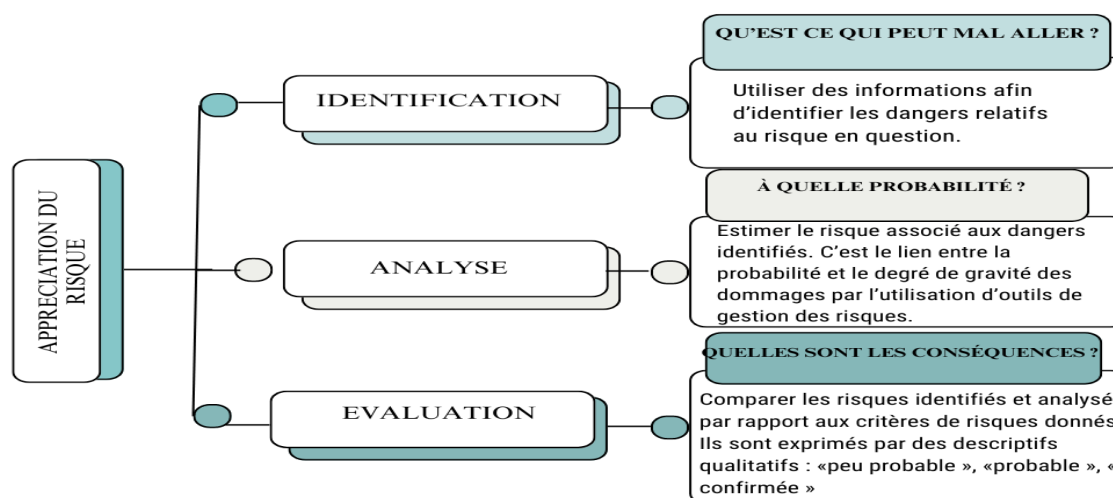


Figure 1 : Plan de gestion du risque qualité selon l'ICH Q9

2-3 Evaluations des risques

Dans ses évaluations, l'EMA a déterminé la cause racine de la présence des impuretés, leur impact potentiel sur les patients, et les mesures pour les réduire ou les éliminer des futurs lots. Elle a ensuite communiqué une approche en trois étapes avec un calendrier strict pour la mise en œuvre d'un processus réglementaire. Cette approche comprend : une demande d'évaluation des impuretés NDMA, N-Nitrosodiméthylamine (NDEA), diisopropyl-N-nitrosamine (DIPNA), ethylisopropyl-N-nitrosamine (EIPNA) et Acide-4-méthyl-nitroso-aminobutanoïque (NMBA) (étape 1), des tests de confirmation supplémentaires (étape 2), et des modifications de l'autorisation de mise sur le marché (étape 3). La FDA a suivi cette approche pour les impuretés liées aux substances médicamenteuses de nitrosamine (NDSRI), lesquelles sont spécifiques à chaque principe actif en raison de leur similitude structurale, et se forment généralement dans le produit fini, avec un délai pour l'étape 3 fixé à août 2025. Pour l'étape 1, l'EMA a publié plusieurs documents pour diriger les entreprises dans la prévention et le contrôle des nitrosamines dans les médicaments à usage humain, dont une annexe intitulée : «Établissement de doses acceptables pour les N-nitrosamines » mis à jour en Mai 2024 et un document de questions-réponses initialement publié en 2020 et révisé début 2024. (8-9-10-11-12-13-14-15-16) (21) (66)

Le choix de l'outil approprié pour l'évaluation des risques est d'une importance primordiale. Pour cela, nous avons utilisé un modèle Excel constitué de cinq feuilles de travail sous forme de questionnaires et une sixième pour les résultats. Les mécanismes de formation des impuretés doivent être connus et contrôlés, incluant les hypothèses d'identification des risques potentiels. Le détenteur d'AMM doit évaluer les risques pour tous les composants de son produit, en notant particulièrement le risque de formation de nitrosamines pour les substances actives

avec un groupe fonctionnel amine nitrosable. Si un risque est identifié pour la substance active, il faut procéder directement à l'étape 2 pour le produit fini. Sinon, il convient de commencer par l'étape 1. Nous avons donc basé notre approche sur l'identification des sources potentielles de formation d'impuretés en acquérant une connaissance approfondie de chaque produit, en étudiant sa composition, son processus de fabrication et de conditionnement, ainsi que les conditions qui peuvent mener à la formation de ces contaminants (Figures 2 et 3). (12), (61)

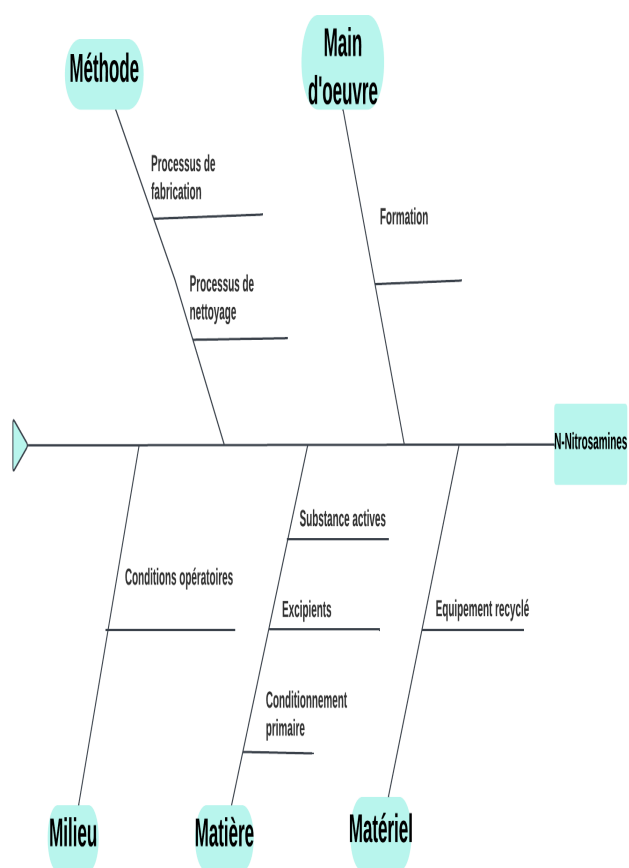


Figure 2 : Diagramme d'Ishikawa des sources potentielles de présences d'impuretés nitrosamines

Informations administratives

- Nom du produit
- DCI
- Dosage
- Forme
- Présentation
- Fabricant

Feuille 1

Formulation et description du processus

- Composition du produit
- Processus de fabrication
- Conditionnement primaire

Feuilles 2 et 3

Figure 3 : Contenu des feuilles 1 à 3.

Évaluation de la matière première

- Répondre pour Q1 à Q4 sur la base des informations reçues de l'API, de l'excipient, et du conditionnement primaire

Feuille 4

Évaluation du processus

- Répondre pour Q5 à Q11 sur la base des informations des dossier d'enregistrement du produit, de fabrication, et de conditionnement

Feuille 5

Figure 4 : Contenu des feuilles 4 à 5.

Pour répondre aux questions 1 à 4 (figure 4). Nous avons examiné les réponses aux questionnaires fournies par l'Active Pharmaceutical Ingredients Committee (APIC) pour les principes actifs et par l'International Pharmaceutical Excipients Council (IPEC) pour les excipients, des fournisseurs. Concernant les conditionnements primaires, nous nous sommes appuyés sur les déclarations affirmant l'absence d'impuretés de nitrosamines et nitrocellulose. Pour la question 5 (figure 4), nous avons évalué la composition des détergents utilisés lors des procédures de nettoyage majeur et mineur selon les fiches techniques et les déclarations des fournisseurs, confirmant l'absence de source d'ammoniaque et de chlore. Pour les questions 6 à 11 (figure 4), nous avons analysé les processus de fabrication en portant une attention particulière aux conditions de température, de Ph et au phénomène de nitrosation. L'Excel est programmé de façon à évaluer le risque comme « peu probable », « probable » ou « confirmé » selon les trois voies de formation de ces impuretés : La nitrosation classique, l'oxydation de l'hydrazine et la chloramination, sur la base des réponses aux questions identifiées comme facteur de risques (figure 5). (58-59), (65)

III- Résultats

Le risque de présence d'impuretés de Nitrosamines est peu probable pour les 4 médicaments (Figures 7, 8, 9,10).

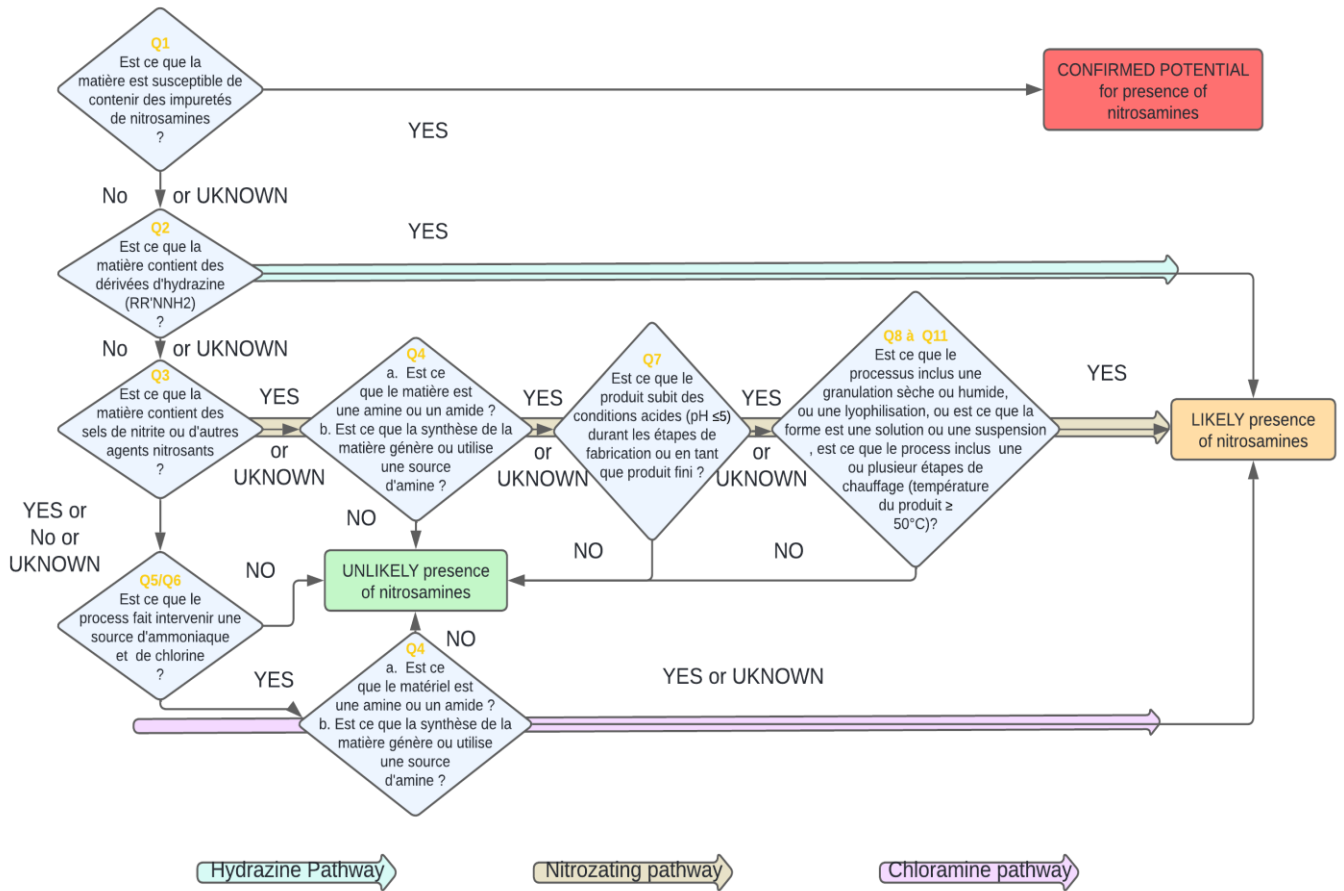


Figure 5 : Diagramme logique de l'évaluation des risques liés à la présence potentielle d'impuretés nitrosamines dans les produits pharmaceutiques destinés à l'homme.

Figure 6 : Résultats du médicament N°1

RISK ASSESSMENT FOR POTENTIAL PRESENCE OF NITROSAMINES IMPURITIES IN HUMAN PHARMACEUTICAL PRODUCTS

RISK ASSESSMENT REPORT

An assessment on likelihood of presence of nitrosamines in the finished product was performed for :

Product Family	ARA II	Product Name	
CODE			0
Manufacturer			

The assessment was conducted according to risk-based decision tree provided hereafter (worksheet 7-Logic Diagram), which explores the main root causes (pathways) for the formation. Outcomes of the assessment are summarized in the following table.

Question Number	Questions for Assessment	Answers
Q1	Does the material likely contain Nitrosamine impurities ?	No
Q2	Does the material contain hydrazine derivatives (RR'NNH ₂)?	No
Q3	Does the material contain nitrite salts or other nitroating agents ? Refer to (Table 1)	No
Q4	a. Is the material an Amide, Urea, Amine or Does it contain Amide, Urea or Amine? b. Does the material synthesis generate or use an Amine source at any step? Refer to (Table 2)	Yes
Q5	Does the process involve any source of ammonia during Manufacturing/ Cleaning? Refer to (Table 3)	No
Q6	Does the process involve any chlorine source during Manufacturing/ Cleaning/ Water Sanitisation? Refer to (Table 3)	No
Q7	Does the product encounter acidic conditions (pH < 4.5) during ANY manufacturing step OR at the finished product level?	Yes
Q8	Does the process include a Wet or Spray Granulation ?	No
Q9	Is the dosage form a 'Solution or a Suspension' ?	No
Q10	Is the process a Lyophilization ?	No
Q11	Does the process include one or several heating steps (Product temp. >50°C) ?	Yes

Risk based assessment concludes	UNLIKELY presence of Nitrosamines
--	--

Next Step	No confirmatory testing required
------------------	---

Figure 7 : Résultats du médicament N°1

RISK ASSESSMENT FOR POTENTIAL PRESENCE OF NITROSAMINES IMPURITIES IN HUMAN PHARMACEUTICAL PRODUCTS

RISK ASSESSMENT REPORT

An assessment on likelihood of presence of nitrosamines in the finished product was performed for :

Product Family	Other analgesics and antipyretics		Product Name	
GMID CODE		LMID CODE	HER CODE (IF APPLICABLE)	
Manufacturer				

The assessment was conducted according to risk-based decision tree provided hereafter (worksheet 7-Logic Diagram), which explores the main root causes (pathways) for the formation of nitrosamines, including potential presence of precursors in the components and Outcomes of the assessment are summarized in the following table.

Question Number	Questions for Assessment	Answers
Q1	Does the material likely contain Nitrosamine impurities ?	No
Q2	Does the material contain hydrazine derivatives (RR'NNH ₂)?	No
Q3	Does the material contain nitrite salts or other nitrozing agents ? Refer to (Table 1)	No
Q4	a. Is the material an Amide, Urea, Amine or Does it contain Amide, Urea or Amine? b. Does the material synthesis generate or use an Amine source at any step? Refer to	Yes
Q5	Does the process involve any source of ammonia during Manufacturing/ Cleaning? Refer to (Table	No
Q6	Does the process involve any chlorine source during Manufacturing/ Cleaning/ Water Sanitisation? Refer to (Table 3)	No
Q7	Does the product encounter acidic conditions (pH < 4.5) during ANY manufacturing step OR at the finished product level?	No
Q8	Does the process include a Wet or Spray Granulation ?	No
Q9	Is the dosage form a 'Solution or a Suspension' ?	No
Q10	Is the process a Lyophilization ?	No
Q11	Does the process include one or several heating steps (Product temp. >50°C) ?	Yes

Risk based assessment concludes	UNLIKELY presence of Nitrosamines
--	--

Next Step	No confirmatory testing required
------------------	----------------------------------

Comments (if any)	
--------------------------	--

Figure 8 : Résultats du médicament N°2

RISK ASSESSMENT FOR POTENTIAL PRESENCE OF NITROSAMINES IMPURITIES IN HUMAN PHARMACEUTICAL PRODUCTS				
RISK ASSESSMENT REPORT				
An assessment on likelihood of presence of nitrosamines in the finished product was performed for :				
Product Family	DECONGESTANTS FOR SYSTEMIC USE		Product Name	
GMID CODE		LMID CODE	OTHER CODE (IF ANY)	
Manufacturer				
The assessment was conducted according to risk-based decision tree provided hereafter (worksheet 7-Logic Diagram), which explores the main root causes (pathways) for the formation of nitrosamines, including potential presence of precursors in the components and specific process conditions. Outcomes of the assessment are summarized in the following table.				
Question Number	Questions for Assessment			Answers
Q1	Does the material likely contain Nitrosamine impurities ?			No
Q2	Does the material contain hydrazine derivatives (RR'NNH2)?			Unknown
Q3	Does the material contain nitrite salts or other nitrozating agents ? Refer to (Table 1)			Yes
Q4	a. Is the material an Amide, Urea, Amine or Does it contain Amide, Urea or Amine? b. Does the material synthesis generate or use an Amine source at any step? Refer to (Table 2)			Yes
Q5	Does the process involve any source of ammonia during Manufacturing / Cleaning? Refer to (Table 3)			No
Q6	Does the process involve any chlorine source during Manufacturing / Cleaning/ Water Sanitisation? Refer to (Table 3)			No
Q7	Does the product encounter acidic conditions (pH < 4.5) during ANY manufacturing step OR at the finished product level?			No
Q8	Does the process include a Wet or Spray Granulation ?			Yes
Q9	Is the dosage form a 'Solution or a Suspension' ?			No
Q10	Is the process a Lyophilization ?			No
Q11	Does the process include one or several heating steps (Product temp. >50°C) ?			Yes
Risk based assessment concludes	UNLIKELY presence of Nitrosamines			
Next Step	No confirmatory testing required			

Figure 9 : Résultats du médicament N°3

RISK ASSESSMENT FOR POTENTIAL PRESENCE OF NITROSAMINES IMPURITIES IN HUMAN PHARMACEUTICAL PRODUCTS			
RISK ASSESSMENT REPORT			
An assessment on likelihood of presence of nitrosamines in the finished product was performed for :			
Product Family	Non-steroidal anti-inflammatory and anti-rheumatic drugs	Product Name	
GMID CODE		LMID CODE	
		HER CODE (IF APPLICABLE)	
Manufacturer			
The assessment was conducted according to risk-based decision tree provided hereafter (worksheet 7-Logic Diagram), which explores the main root causes (pathways) for the formation of nitrosamines, including potential presence of precursors in the components and			
Outcomes of the assessment are summarized in the following table.			
Question Number	Questions for Assessment	Answers	
Q1	Does the material likely contain Nitrosamine impurities ?	No	
Q2	Does the material contain hydrazine derivatives (RR'NNH2)?	Unknown	
Q3	Does the material contain nitrite salts or other nitrozing agents ?	Refer to (Table 1) No	
Q4	a. Is the material an Amide, Urea, Amine or Does it contain Amide, Urea or Amine? b. Does the material synthesis generate or use an Amine source at any step? Refer to	No	
Q5	Does the process involve any source of ammonia during Manufacturing/ Cleaning? Refer to (Table 1)	No	
Q6	Does the process involve any chlorine source during Manufacturing/ Cleaning/ Water Sanitisation? Refer to (Table 3)	No	
Q7	Does the product encounter acidic conditions (pH < 4.5) during ANY manufacturing step OR at the finished product level?	No	
Q8	Does the process include a Wet or Spray Granulation ?	No	
Q9	Is the dosage form a 'Solution or a Suspension' ?	No	
Q10	Is the process a Lyophilization ?	No	
Q11	Does the process include one or several heating steps (Product temp. >50°C) ?	Yes	
Risk based assessment concludes	UNLIKELY presence of Nitrosamines		
Next Step	No confirmatory testing required		
Comments (if any)			

Figure 10 : Résultats du médicament N° 4

VI- Discussion

Ces résultats fournissent une position claire au détenteur d'AMM. Le passage à l'étape 2 n'est exigé que si le risque est confirmé (12). Un feedback des résultats parvient à l'EMA à travers des canevas de réponses aux analyses de risques disponible sur son site, ce qui permet de renforcer ou réfuter la position du détenteur, assurant ainsi un suivi continu entre les deux parties. Cette collaboration joue un rôle crucial dans la compréhension et la maîtrise de ce problème (17). Avant que le CHMP aligne les recommandations pour les Sartans sur celle d'autres médicaments, les limites des nitrosamines s'appliquaient aux substances actives ; elles s'appliquent désormais aux produit fini (33) (37). Elles devraient garantir que le risque de cancer soit inférieur à 1/100 000 pour une personne prenant le médicament à vie. Dans le cas où l'étape 2 confirme le risque, les limites relatives à la NDMA (96 ng/jour) et à la NDEA (26,5 ng/jour) doivent être calculées en les divisant par la dose journalière maximale (en mg) d'un produit donné indiquée dans le RCP, en plus de les inclure dans les spécifications du Produit Fini (PF), sauf s'il est possible de démontrer que les taux sont constamment $\leq 10\%$ de la limite fixée. Les essais peuvent être omis s'il est possible de démontrer qu'ils sont constamment $\leq 30\%$ de la limite fixée et que dans les deux cas les causes sont identifiées et bien comprises. L'approche choisie doit être justifiée par le titulaire de l'AMM, qui doit également mettre à jour la stratégie de contrôle des N-nitrosamines en conséquence et effectuer une évaluation approfondie des matières premières, des risques associés, ainsi que de réaliser un examen indépendant du système global d'investigation des déviations.

Tous les fournisseurs nous ont répondu mais nous avons observé qu'il était difficile d'obtenir un feedback rapide. En cas d'absence de réponse, il est possible de considérer les matières premières comme présentant un risque, qui sera confirmé plus tard soit par des tests analytiques, soit

par la réponse des fournisseurs. Il est également possible de s'appuyer sur des connaissances scientifiques, la littérature ou des sources alternatives d'information (site web, rapport d'audit). (12)

Il est important de maîtriser le phénomène de nitrosation. En effet, l'acide nitreux se convertit en espèces nitrosante (N_2NO_3 ou cation nitrosyl NO^+) à pH acide (50). Le cation nitrosyl réagit avec les amines secondaires pour former des nitrosamines, ce processus peut également être catalysé par des aldéhydes via la formation d'ions iminium et plus difficilement à pH 4,2 et à 37°C en présence de nitrite pendant 4h pour les amines tertiaires et leurs sels d'ammonium qui réagissent par mécanisme de désalkylation. Les sels d'ammonium quaternaires sont capables de réagir de façon similaire. La formation d'impuretés de type N-nitrosamine n'est pas considérée comme un risque majeur lorsque seules des amines primaires sont présentes, bien que leur formation à faible rendement ait été observée dans certains cas, car bien qu'elles réagissent facilement avec le nitrite, la présence d'hydrogènes adjacents permet une conversion rapide de l'espèce nitrosamine en un sel de diazonium. Cette réaction est bloquée par la présence de groupes alkyles adjacents pour les amines secondaires. L'anhydride nitreux (N_2O_3), le tétra-oxyde de diazote (N_2O_4), le chlorure de nitrosyle ($NOCl$), d'autres halogénures, le nitrosylthiocyanate, le nitrosophénol, les sels de nitrite, les nitrites d'alkyle sont également capables de nitroser les amines, contrairement à certains antioxydants tels que l'acide ascorbique qui inhibent la formation de nitrosamines (12). Les conditions de nitrosation efficaces dépendent du pH et de la basicité de l'amine, en effet à faible pH, les réactifs nitrosants sont stables, mais les amines sont moins réactives car elles sont davantage protonées. L'acide nitreux peut former des sels avec les amines basiques, produisant des N-nitrosamines lorsqu'ils sont chauffés. Dans les médicaments à base de Sartan, le nitrite de sodium et

potentiellement l'acide nitreux, formés in situ, sont identifiés comme les agents responsables. Le monoxyde d'azote ne conduit généralement pas à leur formation, mais certains métaux et complexes organométalliques peuvent catalyser ce processus. La nitrosation de trialkylurées produit des nitroso-urées et des petites quantités de trialkylnitrosamines. Le diméthylformamide (DMF) peut aussi subir une nitrosation à faible quantité (50). En présence de nitrites, d'ammoniaque et de chlore libre, la chloration de la diméthylamine forme la NDMA. Via deux réactions compétitives, l'hydrazine peut se former au cours d'une réaction entre l'ammoniac et la monochloramine (52). La destruction oxydative des hydrazines produit des N-nitrosamines et d'autres espèces mutagènes (53).

Les PA contenant un noyau tétrazole nécessitent une attention particulière. Pour contrôler la contamination potentielle par les N-nitrosamines, il est essentiel de réviser la synthèse de ce cycle, où ces substances peuvent se former. Bien que cette structure puisse être produite par diverses procédures (54). Les différentes voies vers le même produit final offrent la possibilité d'introduire des ajustements technologiquement simples dans le processus de synthèse du Sartan, même dans le cadre de la même solution protégée par un brevet (55). Cependant, les réactions secondaires peuvent expliquer la contamination (56). La synthèse de ce cycle repose sur un principe général selon lequel les nitriles réagissent avec certains composés organiques. La méthode sélectionnée affecte la possibilité de formation de sous-produits dangereux, en effet pour éviter l'utilisation d'acide hydrazoïque (HN₃) toxique et explosif, des réactifs comme l'azoture de sodium (NaN₃), le chlorure de tributylétain (Bu₃SnCl) ou l'azoture de tributylétain (Bu₃SnN₃), ont souvent été choisis comme source d'azoture (12). Le fabricant chinois ZHP avait probablement remplacé l'azoture de tributylétain par l'azoture de sodium en excès, moins cher, nécessitant son

élimination ultérieure par du nitrite de sodium (NaNO₂), ce dernier se dissout mal dans les solvants organiques comme le diméthylformamide (DMF), qui est capable de libérer la diméthyleamine (DMA), une amine secondaire. La NDMA a été formé par une réaction du nitrite de sodium avec le DMA (56-57). Certains procédés ont nécessité l'utilisation des bases auxiliaires telles que la triéthylamine (TEA), la diisopropyléthylamine (DIPEA), le bromure de zinc (ZnBr₂), le chlorure de triéthylammonium (TEA HCl) et le bromure de tétrabutylammonium (TBAB) comme catalyseur pour accélérer les réactions à des températures élevées, favorisant ainsi la dissociation de la liaison N-NO (50). Dans des solvants aprotiques polaires à points d'ébullition tels que le DMF, le diméthylsulfoxyde (DMSO) et le N-méthylpyrrolidone (NMP) pendant plusieurs heures (12). Pour minimiser la formation d'impuretés les fabricants devront privilégier l'utilisation de catalyseurs alternatifs moins susceptibles de générer ces impuretés, contrôler rigoureusement les conditions de températures et réduire la durée des réactions prolongées autant que possible. L'examen des données de fabrication des substances médicamenteuses a révélé que le nitrite de sodium était ajouté dans une minorité de cas, principalement lors de la production à grande échelle, cependant, des incohérences ont été observées dans la documentation associée, parfois omise dans les schémas de réaction. L'utilisation courante de nitrite de sodium lors du refroidissement de l'azoture résiduel après la synthèse de tétrazole accroît ce risque, surtout en présence d'amines secondaires issues d'impuretés telles que le DMF (12). Il est exigé de séparer le processus de refroidissement de celui de la synthèse de PA afin d'éviter une exposition prolongée aux nitrites, bien que cela représente un risque pour la sécurité du processus. Cependant, toute réextraction ultérieure ou processus de récupération peut également entraîner une contamination par les N-nitrosamines des sous-produits formés lors

du quenching. La génération de nitrosamine est réduite voire évitée si la phase aqueuse séparée de la phase organique est étanchée à l'aide de nitrite de sodium et d'acide chlorhydrique NaNO₂/HCL, tandis que la phase organique contenant le produit est lavée avec de l'eau pour éliminer l'azide non réagi (23). Il est impératif que le fabricant fournisse des détails précis sur les étapes pertinentes du processus de production, sur le traitement de l'excès d'azide durant la synthèse et sur le contrôle de l'azide résiduel potentiellement génotoxique lors de la séparation et l'extraction, et sur la procédure de gestion des déchets. (34-35)

Une attention particulière doit également être donnée à certains excipients : Parfois, la L-proline, la méglumine et l'EDTA peuvent introduire des amines nitrosables dans une formulation. La triéthanolamine est connue pour contenir de la N-nitrosodiéthanolamine (NDELA), dont la limite est fixée à 24 ppb dans sa monographie de la Pharmacopée européenne et dont la limite d'ingestion acceptable (IA) est de 1900 ng/jour (63). Le glycolate d'amidon de sodium, croscarmellose sodique, amidon prégélatinisé, polyvinylpyrrolidone (PVP), polyvinylpyrrolidone croisée (cPVP) et le lactose sont des excipients susceptibles de contenir des traces d'impuretés de nitrate ou de nitrite (12). Certains rapports reçus par l'EMA suggèrent un lien entre la formation de nitrosamine et l'interaction des PA avec les nitrites dans les excipients, mais pas avec les nitrates. Cette possibilité est considérée comme une cause fondamentale probable. Il convient de noter qu'il n'existe actuellement aucune exigence réglementaire concernant la limitation de la présence de nitrites dans les excipients, car cela n'était pas considéré comme ayant un impact sur la qualité pharmaceutique jusqu'à récemment . Les N-nitrosamine sont hydrosolubles, cependant jusqu'à présent, ni les N-nitrosamines provenant de l'eau, ni celle provenant des processus de dégradation des IPA liés aux impuretés de l'eau n'ont été

identifiées comme des facteurs contributifs. L'eau purifiée utilisé dans les processus de fabrication de l'entreprise est traité par osmose inverse, ce procédé élimine le risque de présence de nitrate (62). En ce qui concerne les conditionnements primaires : La formation de N-nitrosamines peut être causée par la réaction de la nitrocellulose dans la feuille d'opercule avec l'encre d'impression contenant des amines [diméthylamine (DMA) et diéthylamine (DEA)] et transférée au produit fini lors du processus de thermoscellage et de cloquage par vaporisation et condensation sur le produit fini (12). Cela peut être évité en utilisant des feuilles d'opercule sans nitrocellulose. Étant donné la large utilisation de ce matériau pour les médicaments finis, la libération d'oxydes d'azote à partir de la nitrocellulose et la nitrosation subséquente des amines dans l'encre d'impression des médicaments devrait être étudiée par les détenteurs d'AMM pour leurs médicaments emballés dans des blisters. (12), (62-63).

V- Recommandations :

Les fournisseurs jouent un rôle clé dans la prévention de la présence de nitrosamines dans les médicaments. Il est impératif de sélectionner ceux qui garantissent des matières premières exemptes de groupes fonctionnels amines nitrosables, de nitrite et de nitrate. Avant de les contractualiser. Il est crucial d'évaluer leur capacité à maintenir des normes rigoureuses de qualité et de sécurité pour prévenir les nitrosamines. Renforcer ces accords implique de demander des audits, d'améliorer la fiabilité du système de déclarations des personnes qualifiées pour permettre une surveillance efficace par les titulaires d'AMM, et d'assurer une meilleure traçabilité de la chaîne d'approvisionnement. Le réseau européen dispose de plusieurs directives visant à contrôler les impuretés dans les principes actifs et les produits finis, nombre d'entre elles étant élaborées en collaboration avec des partenaires internationaux sous l'égide du Conseil international pour l'harmonisation des exigences techniques pour les produits pharmaceutiques à usage

humain (ICH). De plus, la Pharmacopée européenne établit des normes pour la qualité des médicaments et de leurs ingrédients, qui ont force de loi au sein de l'Union européenne (UE). Une fois les matières premières reçues, des analyses approfondies doivent être effectuées pour détecter toute trace éventuelle de nitrosamines avant leur utilisation dans le processus de fabrication. En parallèle, il est nécessaire d'adapter les conditions de synthèse pour minimiser les risques lors des étapes de production. Les leçons tirées de la présence d'impuretés de N-nitrosamines dans les médicaments Sartans détaillent comment évaluer les risques, signaler les incidents aux autorités et prendre des mesures correctives. L'ICH M7 (R1), complémentaire des directives telles que l'ICH Q3A, Q3B, Q3C et Q3D, fournit des informations sur la gestion de ces substances faisant partie d'un "groupe préoccupant" en raison de leur potentiel mutagène. Le tableau 02 répertorie les lignes directrices pertinentes pour le contrôle des impuretés de manière

générale. Le développement de méthodes analytiques sensibles et spécifiques est également crucial pour surveiller et quantifier efficacement leur présence dans les produits finis. Enfin, la mise en place d'un programme de surveillance continue permet de détecter rapidement toute contamination et d'adopter les mesures correctives nécessaires pour garantir la sécurité des patients (17). Pour minimiser l'exposition aux nitrosamines, les patients doivent également adopter une approche consciente du choix de leurs produits. Il est recommandé de privilégier une alimentation équilibrée et riches en antioxydants, cuire les viandes transformées à des températures appropriées et vérifier attentivement les étiquettes afin d'éviter ceux contenant des additifs comme les nitrates et les nitrites, qui peuvent se transformer en nitrosamines lors de la digestion.

Tableau II : Directives pertinentes pour le contrôle des impuretés.

Nom de la directive	Domaine d'application
Pharmacopée Européenne (Substances à usage pharmaceutique)	exigences générales de qualité contraignantes juridiquement
Directive sur la chimie des substances actives (2017)	Les informations requises dans les dossiers de qualité
La directive sur le résumé des exigences pour les substances actives dans la partie qualité du dossier-2005	Exigences générales concernant les informations dans les dossiers de qualité.
ICH Q11 (2013)	Développement des processus de fabrication pour les principes actifs (API).
ICH Q3A (R2) (2006)	Impuretés dans les principes actifs (API)
ICH Q3B (R2) (2006)	Impuretés dans les produits finis
ICH Q3C (R6) (2019)	Solvants résiduels
ICH Q3D (R1) (2019)	Impuretés élémentaires
ICH Q3D (R1) (2019)	contrôle des impuretés mutagènes
ICH Q7 (2000)	bonnes pratiques de fabrication pour les principes actifs
ICH Q9 (2006)	gestion des risques qualité
ICH Q10 (2014)	système qualité pharmaceutique

VI- Références :

- 1- Notification to the CHMP/EMA secretariat of referral under article 31 of directive 2001/83/EC-Ref. ARES (2018)3586828-05/07/2018
- 2- ich-guideline-m7r1-assessment-and-control-dna-reactive-mutagenic-impurities-pharmaceuticals-limit-potential-carcinogenic-risk-step-5
- 3- Warning letter- MARCS-CMS 566685- November 29,2018
- 4- REGULATION (EC) No 726/2004 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL, Article 5 (3) (30.4.2004).
- 5- CHMP list of question to be addressed by the API manufacturers for valsartan-containing medicinal product- EMEA/H/A-31/1471
- 6- [PS Valsartan-Impurity FRA 07.2018.pdf \(denkpharma.de\)](#)
- 7- EMA. Angiotensin-II- receptor antagonists (sartans) containing a tetrazole group-referral.More about the procedure.(05/2024)
- 8- EMA review of impurities in sartan medicines –EMA/643116/2018
- 9- EMA to provide guidance on avoiding nitrosamines in human medicines-EMA/500009/2019
- 10- EMA EMA advises companies on steps to take to avoid nitrosamines in human medicines- EMA/511347/2019
- 11- EMA finalises opinion on presence of nitrosamines in medicines-EMA/341963/2020
- 12- Nitrosamine EMEA-H-A5(3)-1490- Assessment Report
- 13- Appendix 3 : Enhanced Ames Test Conditions for N-nitrosamines-EMA/120337/2024
- 14- Appendix 2 : Carcinogenic Potency Categorisation Approach for N-nitrosamines
- 15- Appendix 1: Acceptable intakes established for N-nitrosamines EMA/72902/2024
- 16- Nitrosamines EMEA-H-A5(3)-1490 - 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- EMA/409815/2020 Rev.20
- 17- Lessons learnt from presence of N-nitrosamine impurities in sartan medicines
- 18- EMA update on metformin diabetes medicines- EMA/660975/2019
- 19- Champix-EMA-EU- ____EMA/522543/2021 Rev.11
- 20- CHAMPIX (varénicline) – rappel de lots en raison de la présence de l'impureté N-nitroso varénicline à un taux supérieur à la limite accep.
- 21- EMA- Nitrosamine impurities -call for review was extended to biological active substances
- 22- Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1–135- CAS N° 55-18-5
- 23- CHMP List of outstanding issues to be addressed by the API manufacturer for ARAII containing a tetrazole group-EMA/CHMP/668548/2018
- 24- EDQM- Newsroom- OMCLs release three methods for determination of NDMA in sartans
- 25- EDQM-Referral under article 31 of Directive 2001/83/EC-Valsartan-Containing medical products- the extended scope of this referral-Ref. Ares (2018)4836100-20/09/2018
- 26- Ema.europa.eu-referral candesartan-art-31-list-naps
- 27- Ema.europa.eu-referral irbesartan-art-31-list-naps-and-caps
- 28- Ema.europa.eu referral losartan-art-31-list-naps
- 29- Ema.europa.eu referral olmesartan-art-31-list-naps
- 30- Décision d'exécution de la commission-Bruxelles,le 2.4.2019 C(2019) 2698 final
- 31- Médicaments à base de sartans : les entreprises doivent revoir leurs procédés de fabrication afin d'éviter la présence d'impuretés de type nitrosamine-EMA/248364/2019 Rév.1
- 32- Angiotensin-II-receptor antagonists (sartans) Article 31 referral - Annex I
- 33- Nitrosamines : l'EMA aligne les recommandations pour les sartans sur celle d'autres médicaments- 19/02/2021-EMA/134937/2021
- 34- A novel simple and precise method for the determination of azide impurity in sartans using headspace gas chromatography with two dissimilar capillary columns and two flame ionization detector (HS-GC-FID/FID)- DOI : 10.1016/j.jpba.2020.113671
- 35- DETERMINATION OF FOUR NOVEL PROCESS-RELATED GENOTOXIC IMPURITIES IN OLMESARTAN MEDOXOMIL TABLET BY RP-HPLC T. Shah and J. Dhalani* School of Science, RK University, Kasturbadham (Tramba) Rajkot-360020, Gujarat, India *Corresponding Author: jayesh.dhalani@rku.ac.in- 2023
- 36- CHMP/ Annexe II – Conditions de l'autorisation/ des autorisation de mise sur le marché
- 37- CHMP/ Annexe I- Conclusions scientifiques
- 38- National Toxicology Program- U.S Department of Health and Human Services-Report on Carcinogens, Fifteenth Edition- Nitrosamine
- 39- Oncology 33: 51-57 (1976)- Session 1- Chairman : D. Schmahl, Heidelberg-

- Chemical Carcinogens in the Human Environment Problems and Quantitative Aspects
- 40- Special Report- Int. J. Cancer : 27, 471-474 (1981) Animal species in which N-Nitroso compounds induce cancer.
- 41- The genotoxicities of N-nitrosamines in *Drosophila melanogaster* in vivo: the correlation of mutagenicity in the wing spot test with the DNA damages detected by the DNA-repair test -Mutation Research, 252 (1991) 119-128 © 1991 Elsevier Science Publishers B.V. 0165-1161/91/\$03.50 ADONIS 016511619100066Q
- 42- International Journal of Molecular Sciences- Novel In Vivo CometChip Reveals NDMA-Induced DNA Damage and Repair in Multiple Mouse Tissues
- 43- Carcinogenesis vol.13 no. 10 pp. 1789-1794, 1992- Cytochrome P450 2E1 and 2A6 enzymes as major catalysts for metabolic activation of N-nitrosodialkylamines and tobacco-related nitrosamines in human liver microsome
- 44- Mechanism of Dimethylnitrosamine Metabolism and Activation in Rats- H. M. Godoy, M. I. Diaz Gomez, and J. A. Castro
- 45- Cancer Investigation, 2(3), 233-238 (1984)- Alkylation of the O6 of Guanine is Only One of Many Chemical Events that May Initiate Carcinogenesis - Bea Singer, Ph.D. Laboratory of Chemical Biodynamics and Space Sciences Laboratory University of California Berkeley, California 94720
- 46- P. N. MAGEE AND T. HULTIN 1962- Biochem. J. (1962) 83, 114- Toxic Liver Injury and Carcinogenesis METHYLATION OF RAT-LIVER NUCLEIC ACIDS BY DIMETHYLNITROSAMINE IN VIVO
- 47- Elsevier- The formation and biological significance of N7-guanine adducts- Gunnar Boysena, Brian F. Pachkowski , Jun Nakamura b, James A. Swenberg - Mutation Research 678 (2009) 76-94
- 48- chem.-biol. interactions, 16 (1977) 325--333© elsevier/north-holland scientific publishers, ltd- Excision of o6-methylguanine from dna of various mouse tissues following a single injection of n-methyl-n-nitrosourea- Joachim Buecheler and Paul Kleihues
- 49- International Journal of Molecular Science- Novel In Vivo CometChip Reveals NDMA-Induced DNA Damage and Repair in Multiple Mouse Tissues Norah A. Owiti, Joshua J. Corrigan, Lee J. Pribyl, Jennifer E. Kay 2 and Bevin P. Engelward- 2022
- 50- TOXICOLOGY AND APPLIED PHARMACOLOGY 31,325-351 (1975) Formation of N-Nitroso Compounds: Chemistry, Kinetics, and in Vivo Occurrence SIDNEY S. MIRVISH
- 51- Mécanisme de formation des nitrosamines et sous-produits halogénés lors de la chloramination de contaminants organiques azotés émergent-par Julien Le ROUX-2011
- 52- Najm, I., Brown, N.P., Guo, Y.C., Hwang, C.J. and Barrett, S.E. (2006). Formation of hydrazine as a chloramine by-product. AWWA Research Foundation and American Water Works Association, Denver, Colorado.
- 53- Castegnaro M, Brouet I, Michelon J, Lunn G, Sansone EB. Oxidative destruction of hydrazines produces N-nitrosamines and other mutagenic species. Am Ind Hyg Assoc J. 1986 Jun;47(6):360-4. doi: 10.1080/15298668691389874. PMID: 3739905.
- 54- Mavromoustakos T, Agelis G, Durdagi S. AT1 antagonists: a patent review (2008 - 2012). Expert Opin Ther Pat. 2013 Nov;23(11):1483-94. doi: 10.1517/13543776.2013.830104. Epub 2013 Aug 23. PMID: 23968548.
- 55- Improved method for preparing tetrazole for valsartan- CN104045602A
- 56- The antihypertensive drugs and contamination with carcinogenic nitrosamines Artykuł jest tłumaczeniem pracy: Tatarkiewicz J, Bujalska-Zadrożny M. Leki przeciwnadciśnieniowe a skażenie rakotwórczymi nitrozoaminami. Folia Cardiol. 2019; 14(6): 556-563. DOI: 10.5603/FC.a2019.0109. Należy cytować wersję pierwotną
- 57- CIRC 1978 : Groupe de travail du Centre international de recherche sur le cancer sur l'évaluation des risques cancérogènes pour l'homme. Monographies sur l'évaluation du risque cancérigène des produits chimiques pour l'homme : certains composés N-nitroso. CIRC Monogr Eval Carcinog Risk Chem Man 1978 ; 17 : 1-349. <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/mono17.pdf>(8.07.2019).
- 58- APIC_Template_for_report_on_Nitrosamine_Risk_Evaluation_Update_QA Rev12_final_211022
- 59- IPEC-Questionnaire for excipient Nitrosamines Risk Evaluation-IPEC Federation-21/02/2023
- 60- Active Pharmaceutical Ingredients Committee (APIC)- Additional guidance on the assessment on the risk assessment for présence of N-nitrosamine in APIs
- 61- International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use- Ich Harmonised Tripartite Guideline Quality Risk Management Q9

- 62- DEGREMONT Elimination des nitrates par échange d'ions. In : Site 85 - Nitrates dans les eaux, Paris, 22-2» octobre 1985. Rennes : Laboratoire CNGE/ENSCR, 1985, vol 1, 63.
- 63- Org. Process Res. Dev. 2023, 27, 10, 1736–1750 Publication Date: July 21, 2023 <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.3c00153> Copyright © 2023 The Authors. Published by American Chemical Society. This publication is licensed under CC-BY-NC-ND 4.0.
- 64- Guide des bonnes pratiques de fabrication-ANSM
- 65- Currently identified risk factors for presence of nitrosamines (Q4 of EMA/409815/2020)
- 66- Recommended Acceptable Intake Limits for Nitrosamine Drug Substance Related Impurities (NDSRIs)-Guidance for Industry-U.S. Department of Health and Human Services-Food and Drug Administration-Center for Drug Evaluation and Research (CDER)-August 2023