



**N\*** Новосибирский  
государственный  
университет  
**\*НАСТОЯЩАЯ НАУКА**

# Task №3

## The Chinese Study

*Young's  
Modulus*

# Problem

In the summer of 2018, some batches of the drug valsartan, for which the active substance was produced by the Chinese company Zhejiang Huahai Pharmaceuticals, were recalled from the pharmaceutical market. The reason of the recall was the presence of a dangerous impurity N-nitrosodimethylamine (NDMA) in the active pharmaceutical substance. NDMA is highly hepatotoxic and is classified as a proven carcinogen. Its presence in valsartan is believed to be caused by the changes in the production method of the active substance.

- What do you suppose was the source of N-nitrosodimethylamine in the active pharmaceutical substance?
- How should the way it is produced be modified to avoid the appearance of this impurity?
- Is it possible to effectively purify the supplied substance from NDMA?
- If this is possible, suggest an alternative production scheme which excludes the appearance of N-nitrosodimethylamine in the substance.



# Key Questions

Source of N-nitrosodimethylamine (NDMA) in the active pharmaceutical substance of valsartan (PSV)

## Part №1

### **Changing the method of synthesis:**

- ✓ not to get an admixture of NDMA
- ✓ maintain the maximum possible yield of the target product
- ✓ the development of an alternative acquisition scheme (is not an obligatory condition)

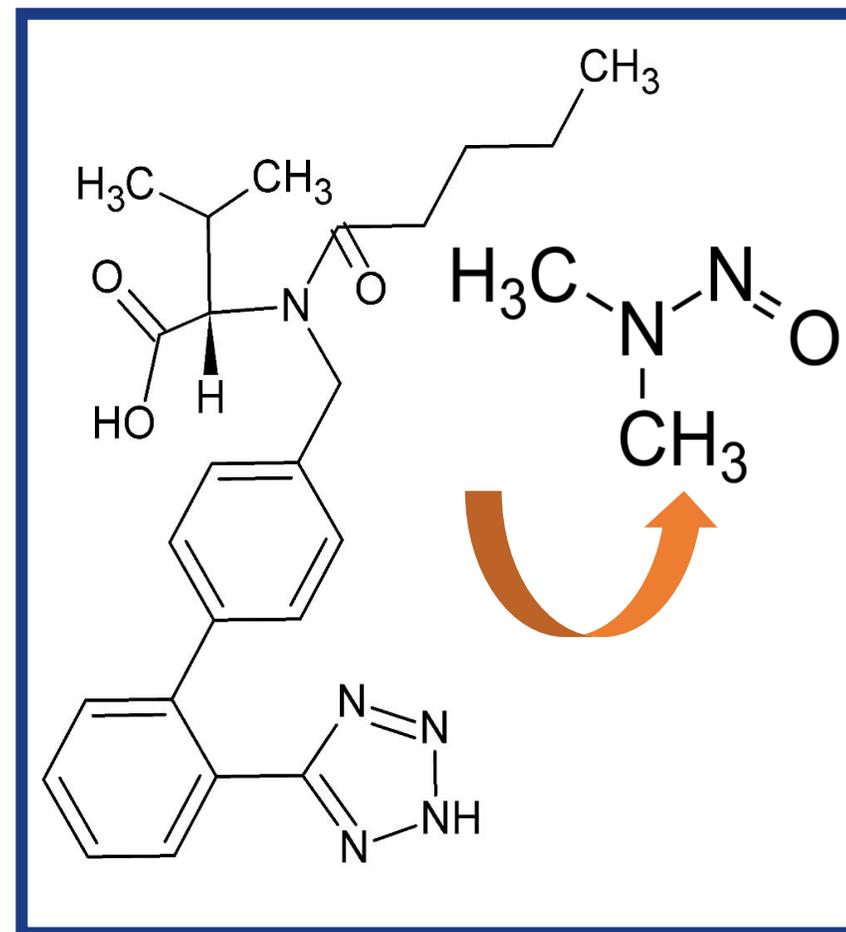
## Part №2

### **Purification PSV from NDMA:**

- ✓ methods of purification
- ✓ criteria for the effectiveness of purification
- ✓ the minimum allowable content of NDMA
- ✓ methods for determining NDMA

# Source of N-nitrosodimethylamine in PSV

- 2017 – иск о нарушении патента по производству лекарственных средств к компаниям [1], среди которых была **Zhejiang Huahai Pharmaceutical Co., Ltd. (“Zhejiang”)**,
- 2018 – отзыв с рынка лекарств, содержащих ФСВ от “Zhejiang” , в том числе по инициативе компании [2]
- Примесь появилась при изменении способа производства:
  - ? Синтез – задача №1
  - ? Очистка – задача №2



# Source of NDMA in the PSV

## Variation of synthesis of valsartan [3-12]:

1. Sequence of the connection of a biphenyl fragment:

- Сначала фрагменты, включая тетразольный фрагмент, а потом их соединение
- Сначала получение бифенильного фрагмента, а потом достройка тетразольного

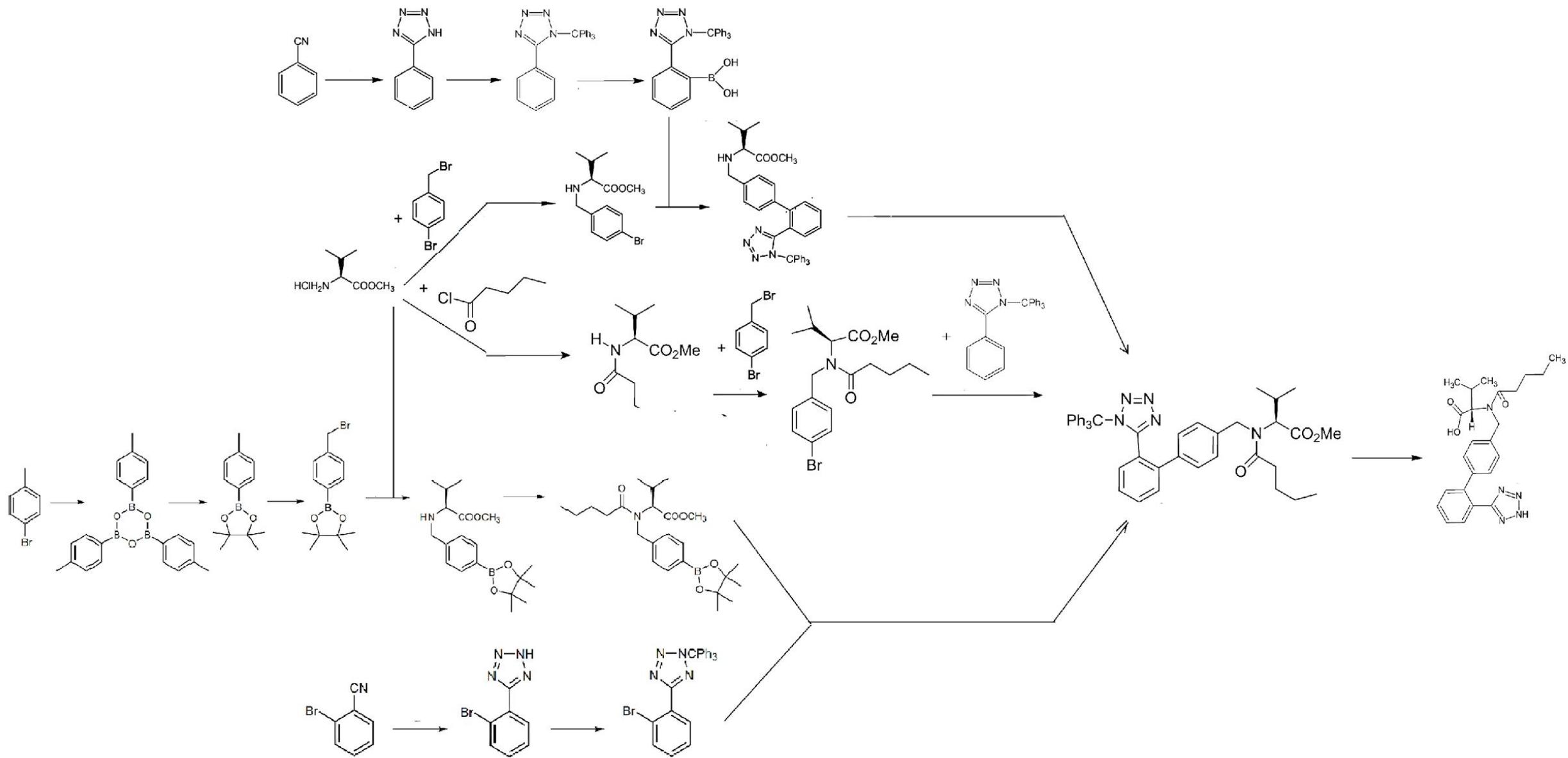
2. Ways to protect groups

3. Methods of the tetrazole fragment formation:

- $+NaN_3 + Ph_3CCl$  (защита) 80-90%

- $+NaN_3 + n-Bu_3SnCl$  97.5%







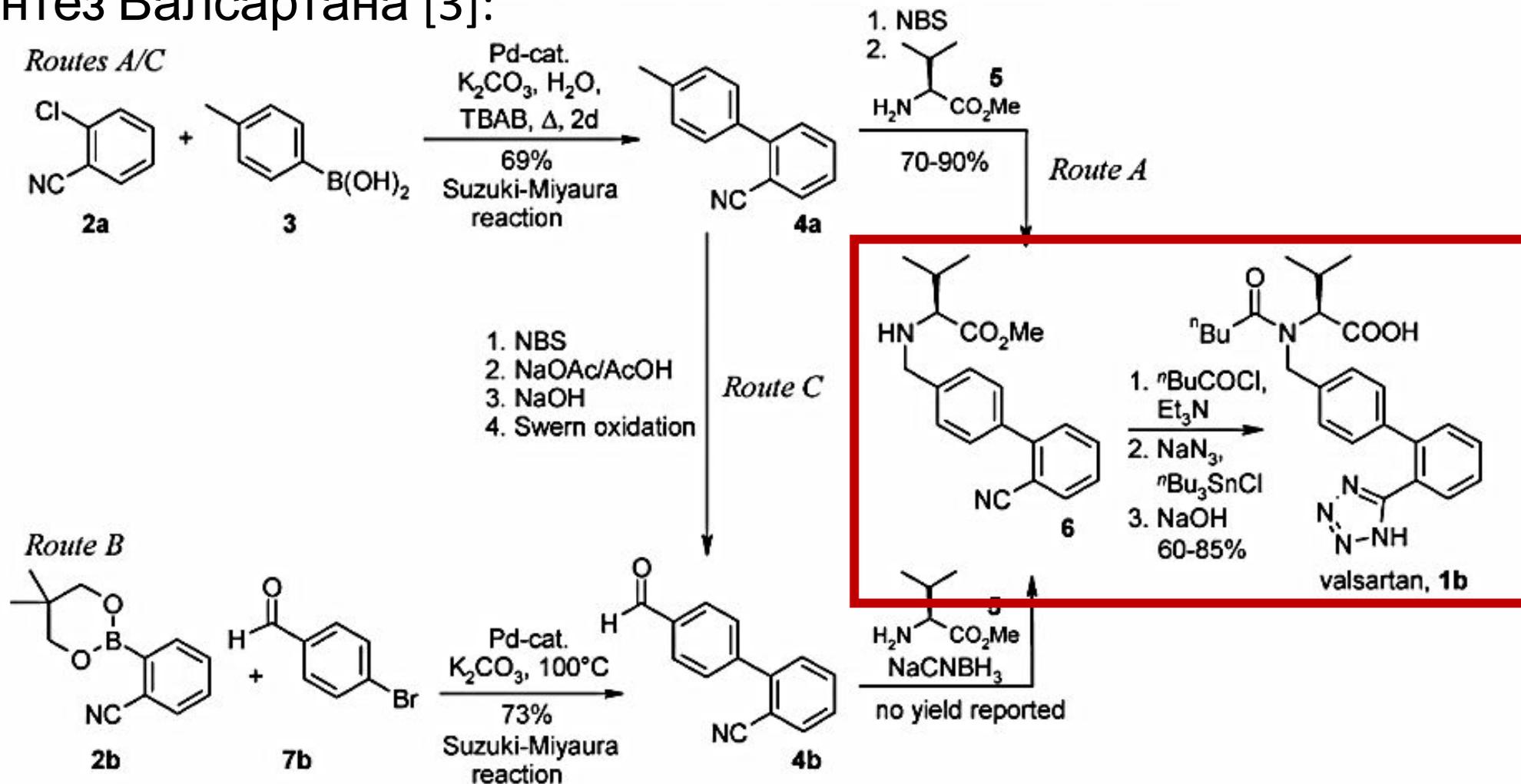


# Хронология событий

- Было
- Изменение = сейчас
- Варсалтан имеет схожую структуру с другими веществами (Лозартан, Кандесартан) - там тоже дифенильный и тетразольные фрагменты

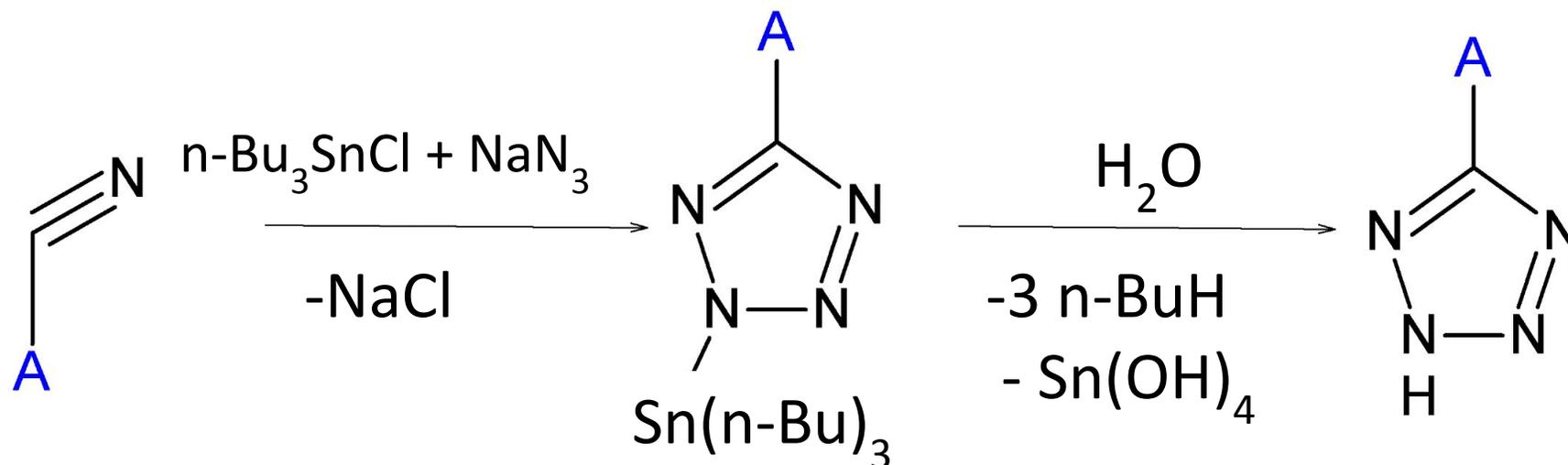
# Источник N-нитрозодиметиламина в ФСВ

- Синтез Вальсартана [3]:



# Источник N-нитрозодиметиламина в ФСВ

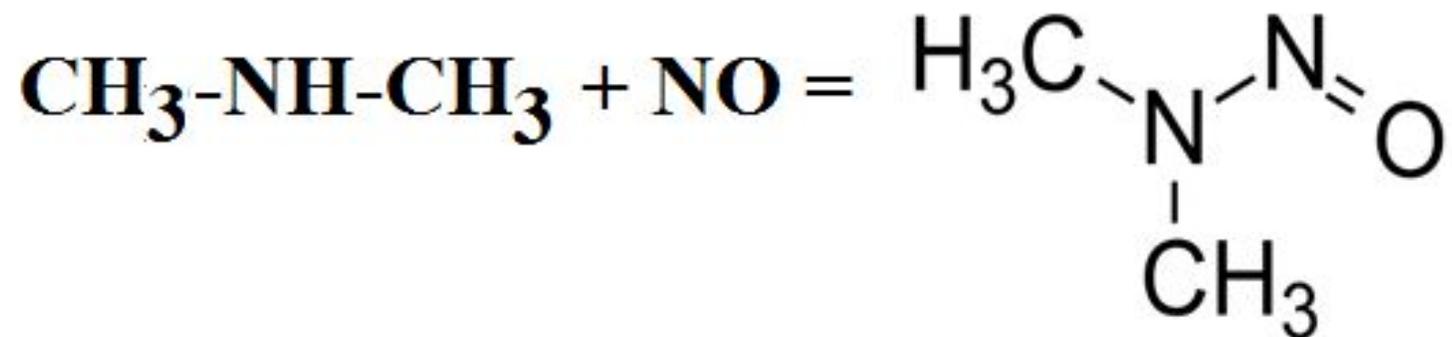
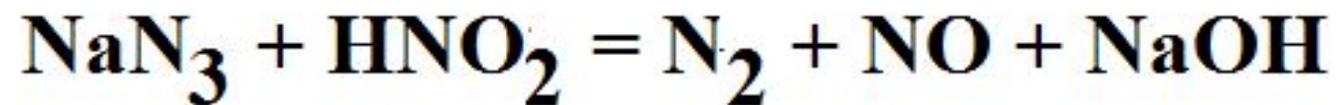
## Задача №1



Источник НДМА – получение тетразольного  
фрагмента

В настоящее время Задача №1 не  
решаема

# Побочные реакции



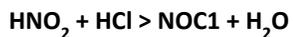
## Синтез

НА образуются главным образом в результате реакции нитрозирования. Нитрозирующими агентами являются производные азотистой кислоты (HONO): XNO, где X — галоген; NO; NO<sub>2</sub>; OH<sub>2</sub><sup>+</sup>; OR; а также нитрозоний-катион [8]. Нитрит-ион и свободная HNO<sub>2</sub> в кислой среде претерпевают превращения в активные нитрозирующие агенты:

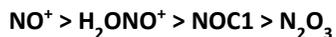
При низких pH возможно образование нитрозоний-катиона:



В присутствии галогенводородных кислот HNO<sub>2</sub> может образовывать нитрозил-галогениды:



Нитрозирующие агенты в порядке убывания своей активности могут быть расположены в ряд:



В качестве нитрозируемых соединений могут выступать различные моно-, ди- и полиамины, а также другие азотсодержащие вещества. Вторичные амины являются прямыми предшественниками НА. Нитрозирование различными агентами происходит в широком температурном интервале в воде, смесях воды с органическими растворителями, в органических растворителях, газовой фазе, а также непосредственно в объектах. Нитрозирование вторичных аминов в присутствии некоторых альдегидов (формальдегида) протекает в щелочной среде.

Содержащиеся в воздухе N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> и N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> способны взаимодействовать со вторичными аминами с образованием соответствующих НА. Все эти реакции протекают в широком интервале pH.

Скорость взаимодействия вторичных аминов с нитритами в слабокислых растворах пропорциональна концентрации амина и квадрату концентрации азотистой кислоты. Кислотность среды играет двоякую роль при нитрозировании аминов. С одной стороны, ее увеличение повышает концентрацию более сильного нитрозирующего агента NO<sup>+</sup>, с другой — снижает концентрацию активной (непротонированной) формы амина и оказывает ингибирующее действие. Такой эффект в меньшей степени проявляется в случае слабоосновных аминов, когда даже при значительных избытках кислоты часть амина может существовать в непротонированной форме и на неё действует сильный нитрозирующий агент. Скорость образования НА из аминов снижается в следующем ряду: морфолин → пирролидин → пиперидин → диметиламин → диэтиламин → ди-н-пропиламин → ди-изо-пропиламин.

Важное практическое значение в химии нитрозаминов имеют катализаторы и ингибиторы реакции нитрозиования. По активности ускорять реакцию нитрозиования аминов анионы располагаются в ряд: SCN<sup>-</sup> → J<sup>-</sup> → Br<sup>-</sup> → Cl<sup>-</sup>. Катализаторами реакции нитрозиования выступают также карбонилсодержащие соединения, тиомочевина, тиолы. Более сложно обстоит дело с фенолами и другими гидроксисоединениями, которые в зависимости от строения, pH среды и других факторов способны оказывать на реакцию нитрозиования как каталитическое, так и ингибирующее действие [11]. В определенных условиях реакцию нитрозиования ускоряют пирокатехин и гидрохинон. Их нитрозирование мало вероятно, так как они более склонны в этих условиях образовывать соответствующие бензохиноны. Другие соединения, содержащие гидроксигруппу, например, галловая и хлорогеновая кислоты, камферол, кверцетин, также могут ускорять образование НА. Способность ускорять реакции нитрозиования выявлена у некоторых непредельных соединений, ПАВ, конъюгатов желчных кислот, а также некоторых микроорганизмов [8].

Следует отметить, что замедление реакции нитрозиования происходит при понижении pH в результате превращения аминов в малоактивные протонированные формы. С другой стороны, реакция может быть ингибирована путем превращения нитрозирующих агентов в малоактивную окись азота. В этом отношении весьма активна аскорбиновая кислота и ее производные [12] в широком интервале pH. Однако действие аскорбиновой кислоты ограничено только гидрофильной средой. В гидрофобных средах рекомендуется использовать токоферолы и другие полифенолы [13].

Двуокись серы и бисульфит-ион, гидросиламин, различные гидразины, азид натрия и некоторые другие восстановители восстанавливают нитрозирующие агенты в окись или закись азота. Некоторые спирты (этанол, этиленгликоль), углеводы (глюкоза, сахароза) и другие соединения, содержащие гидроксильную группу, ингибируют образование НА, превращаясь в соответствующие алкилнитриты [8]. Мочевина и сульфаминовая кислота также дезактивируют нитрозирующие агенты [14]. Эффективным способом дезактивации нитрозирующих агентов является связывание их в неактивные диазосоединения по реакции диазотирования первичных ароматических аминов [15].

N-nitrosodi-n-пропиламин (NdnPA)	$C_6H_{14}N_2O$	92-10-7	150.180	50
N-nitrosodi-n-butylamine (NdnBA)	$C_8H_{18}N_2O$	924-16-3	158.241	60
N-nitrosodiphenylamine (NDPHA)	$C_{12}H_{10}N_2O$	86-30-6	198.221	70,000

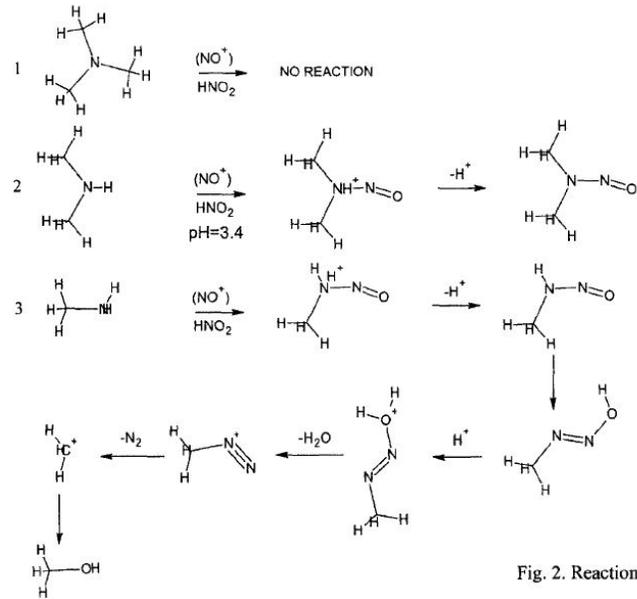


Fig. 2. Reactions of amines with nitrites [6].

and it undergoes fast photolytic degradation. NDMA is a flammable compound. Its molecular weight is  $78.08 \text{ g mol}^{-1}$  and partition coefficient octanol/water ( $\log K_{ow}$ ) is  $-0.57$ .

### 3.2. Formation of N-nitrosodimethylamine

The mechanism of NDMA formation was originally connected with the reaction of secondary amines with nitrite, in which  $NO^+$  played a parti-

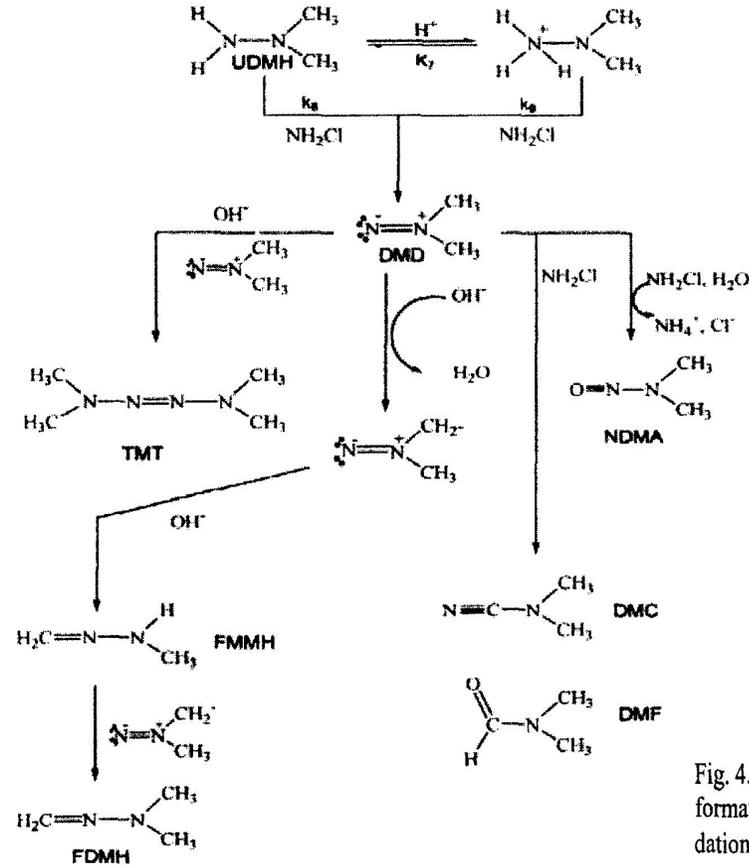


Fig. 4. Scheme of the reaction leading to the formation of NDMA through UDMH; oxidation of UDMH [3].

- 3.2.1. *N*-nitrosodimethylamine as a product of the disinfection of water containing dimethylamine with chlorine
- 3.2. 2. *N*-nitrosodimethylamine as a product of disinfection of water containing dimethylamine with chlorine dioxide
- 3.2.3. *Reaction of ozone with dimethylamine*
- 3.2.4. *Reaction of hydrogen peroxide with dimethylamine*

# Задача №2 Способы очистки

	Возможность реализации		Относительная простота выполнения
	НДМА + Валсартан	Производство фармсубстанции	
Фильтрация	—	+	+
Перекристаллизация	+	+	—
Экстракция	+	+	—
Перегонка	+	+	—
Сублимация	—	+	—
Колоночная хроматография	+	+	+



# Колоночная хроматография

## Принцип действия

# Задача №2 Колоночная хроматография

## Выбор условий

Вещество	Растворимость в воде, мг/л	Растворимость в MeOH/EtOH
НДМА [13]	$1,0 \cdot 10^3$	растворим
Валсартан [14]	1,409	растворим

Способ №1  
«Вода»

- Пропустить реакционную смесь через колонку с сорбентом
- Пропустить воду через колонку (-НДМА)
- Промыть колонку метанолом или этанолом

Способ №2  
«фермент»

1. Поместить в колонку сорбент, с ферментами НДМА [15-17]
2. Пропустить реакционную смесь через колонку (-Валсартан)



# Задача №2 Колоночная хроматография

## Сравнение способов

Способ №1 «Вода»	Способ №2 «Фермент»
Простота	Простота
Сорбент = силикагель	Специальный сорбент
Очищение от спектра веществ, хорошо растворимых в воде	Очищение только от НДМА
Возможно осуществить сейчас	Загрязнение продуктами распада НДМА: $\text{MeNH}_2$ , $\text{NO}_2^-$ , $\text{NO}_3^-$ , $\text{MeOH}$ , $\text{CO}_2$
Дешевле	Дороже
Необходимость очистки отходов	Меньшее число стадий очистки
Уменьшение выхода Валсартана, за счет сорбции в колонке	Валсартан не сорбируется

# Задача №2

## Критерии эффективности очищения

- Процентное содержание примесей

$$\% \text{ примеси} = \frac{m^{\text{общая}} - m_2^{\text{целевого}}}{m^{\text{общая}}} \cdot t \cdot 100 \%$$

- Потеря целевого продукта

$$m^{\text{потери}} = (m_1^{\text{целевого}} - m_2^{\text{целевого}}) \cdot t$$

Критерии должны быть минимальными при эффективном очищении  
ФС

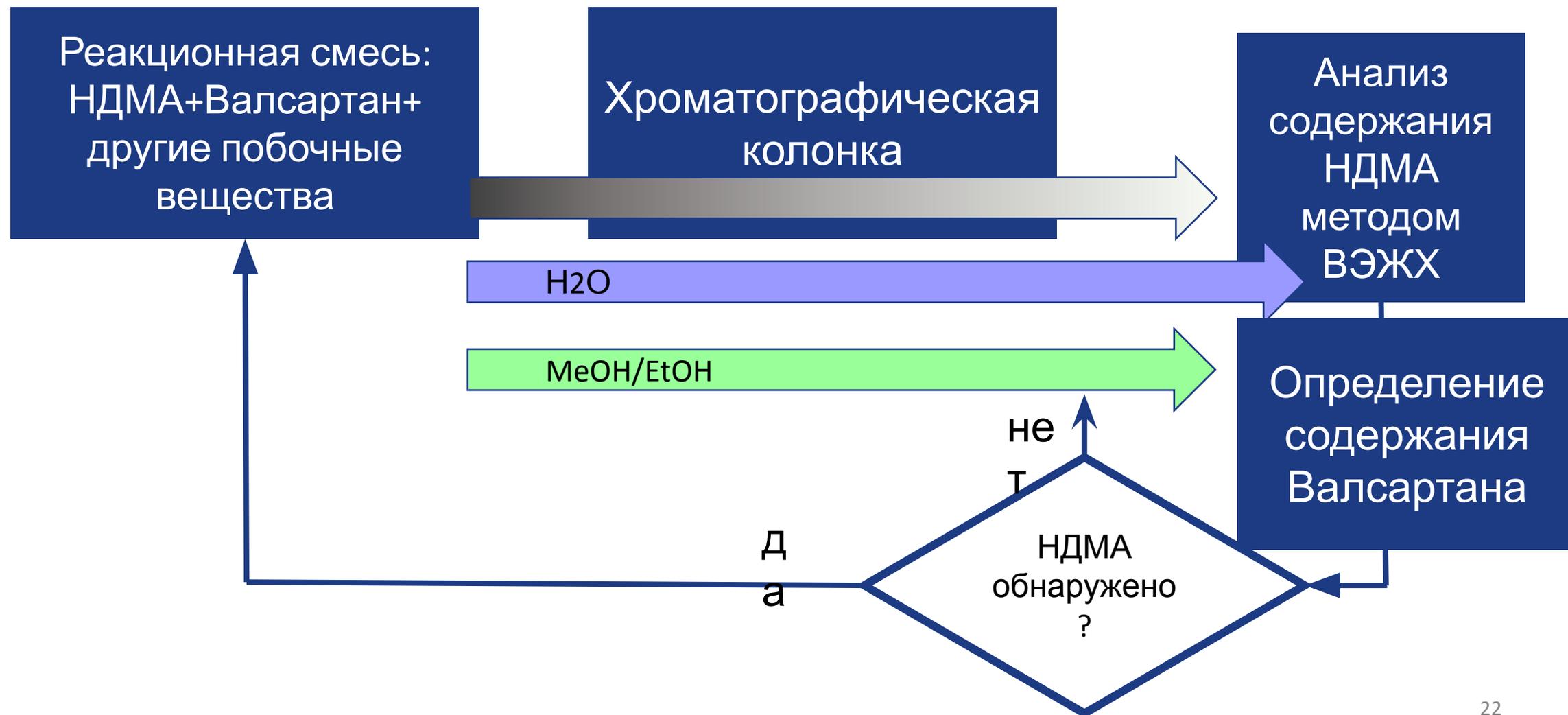
где  $m^{\text{общая}}$  - общая масса полученной ФСВ (мг),  
 $m_1^{\text{целевого}}$  - содержание Валсартана до очистки (мг),  
 $m_2^{\text{целевого}}$  - содержание Валсартана после очистки (мг),  
 $t$  – время очистки, когда НДМА не обнаружено



# Задача №2 Определение НДМА

Способ определения	Предел обнаружения, нм/л
Метод термознергетического анализа, предложенный Руприw et al [18]	100
Окисление с пентафлуоробензойной кислотой ГХ с детектором электронного захвата [19]	10-80
ВЭЖХ [20]	<5

# Предлагаемая схема очищения ФСВ от НДМА



# Conclusion

- Задача №1 «Изменение синтеза» по изменению пути синтеза Валсартана, при котором сохраняются те же выходы продукта в настоящее время не решается
- Решением задачи №2 «Очищение ФСВ от НДМА» является очищение реакционной смеси после синтеза с использованием колоночной хроматографии
- Выбран способ хроматографирования №1 «Вода» из-за ряда преимуществ: удаление спектра загрязнителей, растворимых в воде, простота, возможность реализовать в настоящее время
- Так как НДМА является канцерогеном, то для контроля отсутствия НДМА выбран метод с низким пределом обнаружения
- Приведена схема внедрения очистки ФСВ от НДМА

# References 1/4

1. Жалоба о нарушении патента компаниями Complaint against Defendants Princeton Pharmaceutical Inc. (“Princeton”), Zhejiang Huahai Pharmaceutical Co., Ltd. (“Zhejiang”), Huahai US Inc. (“Huahai”), Solco Healthcare US, LLC (“Solco”) [https://insight.rpxcorp.com/litigation\\_documents/12756466](https://insight.rpxcorp.com/litigation_documents/12756466) (дата обращения 10.11.2018)
2. Отзыв ФС валсартана, произведенной “Zhejiang” :
  - <https://www.precisionvaccinations.com/zhejiang-tianyu-pharmaceutical-identified-valsartan-recall-european-medicines-agency> (дата обращения 15.11.2018)
  - <https://www.ema.europa.eu/en/news/eu-inspection-finds-zhejiang-huahai-site-non-compliant-manufacture-valsartan-ema-national> (дата обращения 15.11.2018)
  - <https://newyork.legalexaminer.com/health/fda-prescription-drugs/new-valsartan-class-action-case-filed-in-new-jersey/> (дата обращения 15.11.2018)
  - <https://www.biopharmadive.com/news/fda-bans-zhejiang-huahai-imports-as-valsartan-review-continues/538626/> (дата обращения 15.11.2018)
3. Goossen L. J., Melzer B. Synthesis of valsartan via decarboxylative biaryl coupling //The Journal of organic chemistry. – 2007. – Т. 72. – №. 19. – С. 7473-7476.



# References 2/4

4. Ghosh S., Kumar A. S., Mehta G. N. A short and efficient synthesis of valsartan via a Negishi reaction //Beilstein journal of organic chemistry. – 2010. – T. 6.
5. Ghosh S. et al. Improved Synthesis of Valsartan via Nucleophilic Aromatic Substitution on Aryloxazoline //Synthetic Communications®. – 2009. – T. 39. – №. 21. – C. 3880-3887.
6. Zhang C. X. et al. A simple and efficient synthesis of the valsartan //Chinese Chemical Letters. – 2008. – T. 19. – №. 7. – C. 759-761.
7. Pandarus V. et al. Greening the Valsartan Synthesis: Scale-up of Key Suzuki–Miyaura Coupling over Silia Cat DPP-Pd //Organic Process Research & Development. – 2013. – T. 17. – №. 12. – C. 1492-1497.
8. Zhang C. et al. Efficient synthesis of valsartan, a nonpeptide angiotensin II receptor antagonist //Synlett. – 2006. – T. 2006. – №. 03. – C. 0475-0477.
9. Wang G., Sun B., Peng C. An improved synthesis of valsartan //Organic Process Research & Development. – 2011. – T. 15. – №. 5. – C. 986-988.
10. Meti G. Y. et al. Synthesis of Tetrazole Regioisomers of Biphenyl as ACE Inhibitors. – 2017.
11. Nagaki A. et al. Design of a numbering-up system of monolithic microreactors and its application to synthesis of a key intermediate of valsartan //Organic Process Research & Development. – 2016. – T. 20. – №. 3. – C. 687-691.



# References 3/4

12. Vangala V. B., Hindupur R. M., Pati H. N. A Review on Synthesis of Antihypertensive Sartan Drugs //International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research. – 2014. – Т. 3. – С. 46-56.
13. PubChem N-Nitrosodimethylamine  
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6124#section=Top>  
(дата обращения 15.11.2018)
14. PubChem Valsartan <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/60846#section=Top>  
(дата обращения 15.11.2018)
15. Sharp J. O., Wood T. K., Alvarez-Cohen L. Aerobic biodegradation of N-nitrosodimethylamine (NDMA) by axenic bacterial strains //Biotechnology and bioengineering. – 2005. – Т. 89. – №. 5. – С. 608-618.
16. Hatzinger P. B., Lewis C., Webster T. S. Biological treatment of N-nitrosodimethylamine (NDMA) and N-nitrodimethylamine (NTDMA) in a field-scale fluidized bed bioreactor //Water research. – 2017. – Т. 126. – С. 361-371.
17. Schriemer D. C. Peer reviewed: biosensor alternative: frontal affinity chromatography. – 2004.



# References 4/4

18. Phillips J. M. et al. Reduced Blood Clearance and Increased Urinary Excretion of  $\gamma$ -Nitrosodimethylamine in Patas Monkeys Exposed to Ethanol or Isopropyl Alcohol //CANCER RESEARCH. – 1992. – T. 52. – C. 1463-1468.
19. Tomera J. F. et al. Inhibition of N-nitrosodimethylamine metabolism by ethanol and other inhibitors in the isolated perfused rat liver //Carcinogenesis. – 1984. – T. 5. – №. 1. – C. 113-116.
20. Kodamatani H. et al. Ultra-sensitive HPLC-photochemical reaction-luminol chemiluminescence method for the measurement of secondary amines after nitrosation //Analytica chimica acta. – 2017. – T. 952. – C. 50-58.



Thanks for attention!

# N-нитрозодиметиламин

