

API VE BİTMİŞ ÜRÜNLERDE PGI TAYİNİ

Potansiyel Genotoksik İmpürite (PGI) sınıfındaki bileşiklerin dedeksiyonu için güvenilir ve hızlı metodlara olan ihtiyaç sürekli artıyor.



Zafer BAYRAM

API üretim prosesinde sentez için hammadde olarak kullanılan bileşiklerin ya da sentez veya degradasyon sonucunda ortaya çıkan ara/yan ürünlerin safsızlık olarak kalma potansiyeli söz konusudur. Bu maddelerin bazılarının in vitro ve in vivo genotoksikite testlerinde DNA ile reaksiyona girebildiği ve doğrudan DNA hasarı potansiyeli olduğuna; doğrudan veya dolaylı olarak teratojenik (doğumsal kusurlara neden olan), mutajen veya kanserojen olduğuna dair bulgular elde edilmiştir. Bu sınıftaki maddeler potansiyel genotoksik impüriteler (PGI) olarak tanımlanmaktadır.

Genotoksik impürite vakalarına bir örnek 2007 yılında meydana gelmiştir. Anti HIV ilacı

olarak kullanılan ve etken maddesi nefinavir mesilat olan bir ilacın içerisinde yüksek konsantrasyonda (2300ppm) metan sulfonat etil esteri tespit edilmiş ve bu durum söz konusu ilacın AB ülkelerinde geri toplatılmasına neden olmuştur. Benzeri durumların oluşmaması açısından, ilaç üreticileri hem API'lerde hem de bitmiş ürünlerde genotoksik kalıntı içeriğini güvenlik gerekliliklerine uyum çerçevesinde en düşük uygulanabilir seviyelere çekme ihtiyacı duymaktadır. (Guideline on the Limits of Genotoxic Impurities (EMA/CHMP/QWP/251344/2006))

Analitik yöntem

Genotoksik impüriteler için kullanılacak analitik yöntemler

ICH kılavuzlarında Tablo 1'deki gibi yer almaktadır.

Genetik toksisite gösterdiğinden şüphelenilen ilaç impüritelerinin tayini, normal safsızlıklardan çok daha iyi bir ayrımı ve eser miktarlarda kantitasyonu gerektirmektedir. İleri derecede iz seviyedeki bileşiklerin yüksek hassasiyetli dedeksiyonu için

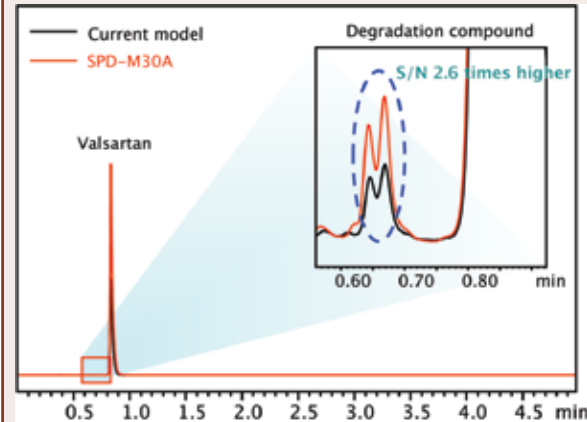
yüksek hassasiyetli özel fotodiyot array dedektör (PDA) kullanılmaktadır.

Grafik 1 ve 2'de valsartan ve sefazolinin genetik toksisite potansiyeline sahip degradasyon ürünlerinin yüksek/ultra hızlı ve yüksek hassasiyetli tayinine yer verilmektedir

Grafik 1. Valsartanın degradasyon ürünlerinin analizi

Analitik Koşullar

UHPLC	Shimadzu Nexera SR UHPLC
Kolon	C18 (150 mm, 3.0 mm, 2.6 µm)
Mobil faz	Asetik asit / Asetonitril / Su = 1/500/500
Akış hızı	1.5 mL/dk
Kolon sıcaklığı	30 °C
Enjeksiyon sıcaklığı	10 µL
Dedeksiyon	245nm



Tablo 1. GPI'ların tayininde kullanılan analitik yöntemler

PGI	Analitik Yöntem
Alkyl/Benzyl halides (Halojenli VOCl'er, Halojenli alkoller)	GC-MS
Alkyl sulfonates	
Dialkyl sulfonates	
Epoxides	LC-MS
Nitro aromatics, Azo aromatics	GC-MS, LC-MS
Hydrazines	LC-MS
Acrylates	LC-MS
N-Nitrosoamine	GC-MS, LC-MS

Valsartan

Valsartan'ın degradasyon ürünlerinin tayini için Nexera SR ultra yüksek performanslı likit kromatografi sistemi (UHPLC) kullanılmıştır. Sistemde bulunan SPD-M30A yüksek hassasiyetli PDA'da kullanılan yeni nesil kapiler SR-Hücre(*) (Sensitivity and Resolution Cell) sayesinde düşük gürültü ve yüksek sinyal elde edilmektedir. SPD-M30A ile ileri derecede iz seviyedeki

safsızlıkların yüksek hassasiyetli dedeksiyonu mümkün olmaktadır.

(*) SR-Hücre

Standart bir hücrenin optik ışık yolu kısaltıldığında, saçılma minimal olacak, ancak hassasiyet düşecektir. Optik ışık yolu uzadığında ise pik yayvanlaşacak, gürültü ve *drift* (kayma) da artacaktır. Yeni Kapiler SR-Hücre bu kısıtlamaların üstesinden gelmesine yar-

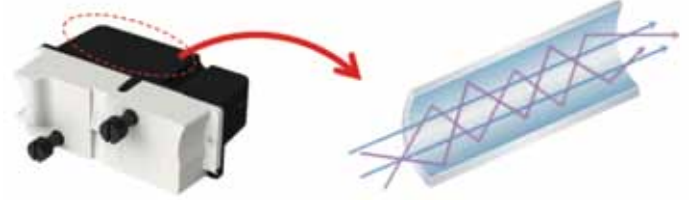


Foto 2. SR Hücre ve toplam refleksiyon kapiler hücre kesiti

Grafik 2. Sefazolinin degradasyon ürünlerinin analizi

Analitik Koşullar

UHPLC	Shimadzu Nexera SR UHPLC
Kolon	ODS-II (150 mm, 3.0 mm, 2.2 µm)
Mobil faz	A) 20 mmol/L (sodyum) Fosfat tamponu (pH 2.5) B) Asetonitril
Gradient	%15 (0.0 dk) → %30 (4.0 dk) → %50 (9.0 dk)
Akış hızı	0.9 mL/dk
Kolon sıcaklığı	40 °C
Enjeksiyon sıcaklığı	2 µL
Dedeksiyon	245nm

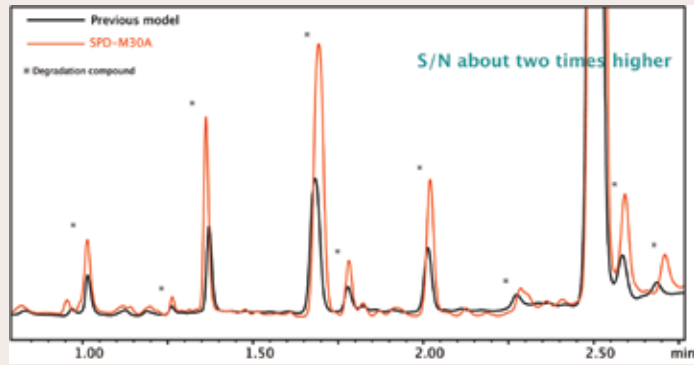


Foto 1. SHIMADZU Nexera UHPLC Sistemi



Foto 3. Hızlı GC ile PGI Analizi - RESTEK Rxi-5Sil MS kolon ile PGI sınıfında değerlendirilen sulfonat esterler için bir hızlı GC analiz metodu geliştirilmiştir.



dımcı olacaktır. Hücrenin optik ışık yolu uzunluğu ve genişliğinin optimize edilmesi ile UHPLC ve HPLC uygulamalarında düşük gürültü ve yüksek sinyal elde edilebilmektedir.

Sonuç

Potansiyel genotoksik impürite-ler gerek yasa koyucular gerekse tüketiciler açısından giderek daha fazla ilgi uyandıran bir konu olmaktadır. Bu sebeple bu bileşiklerin dedeksiyonu ve miktar tayini için güvenilir ve hızlı metotlara olan ihtiyaç sürekli olarak artmaktadır.

Kaynak

- Guideline on the Limits of Genotoxic Impurities (EMA/CHMP/QWP/251344/2006))
- Shimadzu LC Aplikasyon Data Sheet Sayı 24, Valsartan'ın Degradasyon Ürünlerinin Ultra Hızlı ve Yüksek Hassasiyetli Analizi
- Shimadzu LC Aplikasyon Data Sheet Sayı 27, SPD-M30A Kullanılarak Yüksek Hızlı ve Yüksek Hassasiyetli Cefazolin Analizi
- Restek Corporation Makale, Two Options for Analyzing Potential Genotoxic Impurities in Active Pharmaceutical Ingredients