

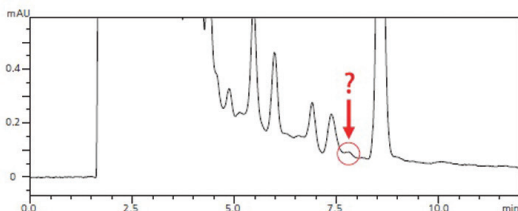
İZ SEVİYEDE SAFSIZLIKLARIN VE ETKEN MADDELERİN ANALİZİ

HPLC ile yüksek hassasiyette kantitatif analiz, konvansiyonel yöntemlerle yapılan iz seviyede safsızlık ve etken madde analizlerine farklı bakış açıları getiriyor.

Konvansiyonel analitik yöntemler, iz seviyedeki analizlerin gerçekleştirilmesi açısından yetersiz kalıyor. Bunun nedeni, daha düşük analit konsantrasyonlarına yönelik eğilimlerin gün geçtikçe artması olarak görülüyor. Örneğin, ürün safsızlıkları (impüriteler) yalnızca ürün kalitesini olumsuz etkilemekle kalmıyor aynı zamanda ürün güvenliğinde de sorunlara neden oluyor ve safsızlıklardan kaynaklı sorunların tespit edildiği vaka sayısı giderek artıyor. Bu durum, son derece düşük seviyedeki safsızlıkların kantitatif analizinin önemli olduğu ilaç sektörü gibi alanlarda safsızlık kontrolünün sıkı bir şekilde yapılması zorunluluğunu da beraberinde getiriyor. Öte yandan, analitin etken maddenin kendisi olduğu durumlarda ise konsantrasyonlar dakika seviyesine indikçe kantitatif bir metod oluşturulması zorlaşıyor.

Bu durumu çözecek yaklaşımların başında numune hacminin ve dolayısıyla da hassasiyetin artırılması gibi önlemler geliyor. Ancak yaklaşımın, ana maddenin çözünürlüğünün de olumsuz etkilenmesi veya analitin numune matrisinde bulunan çok sayıda engelleyici madde arasından yeterince iyi ayrılması gibi sonuçları da söz konusu olabiliyor (Şekil 1). Bu olumsuz etkilerin giderilmesi ise ekstraksiyon ve konsantrasyon gibi önleme prosedürleri-

Şekil 1. İmpürite Piki Örneği



nin kullanımını gerektiriyor ancak karmaşık ön işleme prosedürleri kullanıcılar açısından zaman alıcı olduğu gibi laboratuvar verimliliğini de olumsuz etkiliyor. Bu nedenle, iz seviyedeki analitlerin kantitasyonu için iki farklı gereksimin karşılanması gerekiyor: Ölçüm hassasiyetinin artırılması ve işlemlerin hızlandırılması. Bunu başarmanın en kolay yolu ise fraksiyon toplama (fraksinasyon) ve analitlerin konsantrasyonu aşamalarından nihai kantitasyon aşamasına dek tüm sürecin otomasyonunu sağlamak.

İz seviyedeki maddelerin kantitasyonunun otomasyonu

Konvansiyonel HPLC veya UHPLC (ultra yüksek performanslı HPLC) cihazlarının teknik özellikleri, fraksinasyon, konsantrasyon ve kantitasyon şeklindeki üç adımlı aşamaların otomasyonunu mümkün kılacak şekilde genişletilebilir olsaydı, sonuç daha düşük maliyetler ve cihazların çalıştırılması ve bakımı için geçen sürenin daha verimli kullanılabilmesi olurdu. Co-sense impürite sistemi bu fikirden yola çıkılarak geliştirilmiştir.



Safsızlıklar için co-sense sistemi

Kolon geçiş teknolojisi ve iki boyutlu ayırım teknolojisini birleştiren Co-sense impürite sistemi, proses otomasyonunun fraksinasyon, konsantrasyon ve kantitasyon aşamalarıyla tamamlanmasını öngörüyor. Sistemin kurulması için konvansiyonel veya UHPLC sistemlerinden hangisi seçilirse seçilsin, iz seviyedeki maddelerin yüksek hassasiyette kantitasyonu ve otomasyon süreci hedeflerinin her ikisi de gerçekleştirilebiliyor. Aşağıda çalışma prensibi ve bu sistemle gerçekleştirilen bazı uygulama örneklerine yer veriliyor:

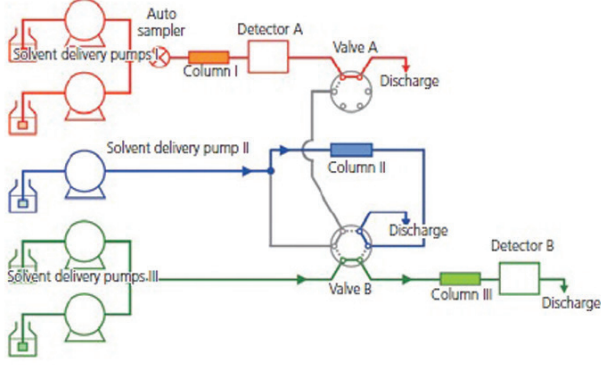
Sistem akış hattı

Şekil 2 co-sense impürite sisteminin akış diyagramıdır. Sistem aşağıdaki üç akış hattından meydana geliyor:

1. Fraksinasyon akış hattı (kırmızı renkli)
2. Konsantrasyon akış hattı (mavi renkli)
3. Kantitasyon akış hattı (yeşil renkli)

Co-sense impürite sistemi uygulama örnekleri

Şekil 3 ve 4 co-sense impürite sistemi ile gerçekleştirilen iz seviyedeki analiz uygulamalarından örnekler içeriyor. Şekil 3 pseudo-impürite, kafein

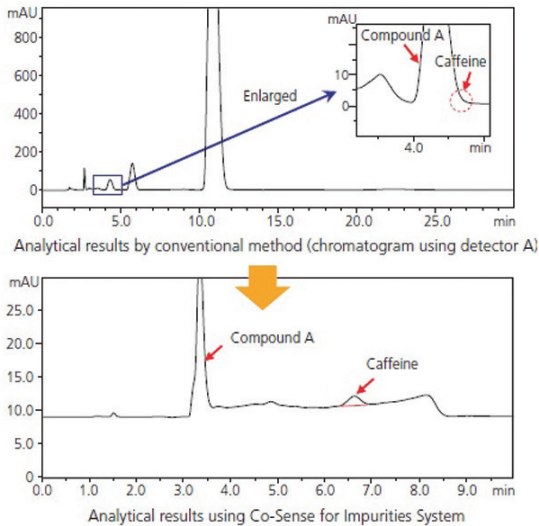


Şekil 2. Co-sense impürite sisteminin akış hattı diyagramı

(% 0.0008'lik safsızlığa eşit) spike edilmiş bir ilaç ürününü (cefazolin 0.5 mg/mL) gösteriyor. Burada üçüncü adımda analizin hızlandırılması için yüksek hızlı bir analitik kolon kullanılmıştır. Öte yandan, Şekil 4 bir başka ilaç ürünü olan 10 mg/mL'lik ritodrine enjeksiyon çözeltisinin pseudo-impürite metil paraben (% 0.00001'lik safsızlığa eşit) spike edilmiş halini gösteriyor. Her iki analizde de farklı ayırma karakteristiklerine sahip iki farklı mobil faz kompozisyonunda her iki ayırma modunda da (step 1 ve step 3) yüksek ayırma sağlanabilmiştir.

Yapılan çalışmalar, konvansiyonel yöntemlerle miktar tayini sorunlu olan, iz seviyedeki maddelerin analizinin bu yöntemle mümkün olduğunu gösteriyor.

Şekil 3. Co-sense impürite sistemi uygulama örneği (1)



Co-sense impürite sistemi

HPLC ve UHPLC ile daha kolay kullanım olanağı sağlaması açısından, Co-Sense İmpürite Sistemi'nin yazılımı bir GUI (grafik arayüzü) kullanılarak tasarlanmıştır. Şekil 6'de görüleceği gibi, yalnızca gerekli ayarların tek pencerede toplanması değil sistemin aşamalarının da kolay izlenebilir olması açısından da sistemin aşamaları grafik olarak sunuluyor.

Bu özellik sayesinde kullanıcılar eser miktardaki maddelerin analizlerini de kolaylıkla yapıyor.

Co-sense impürite sisteminin kütle spektrometre sistemi ile birlikte kullanımı

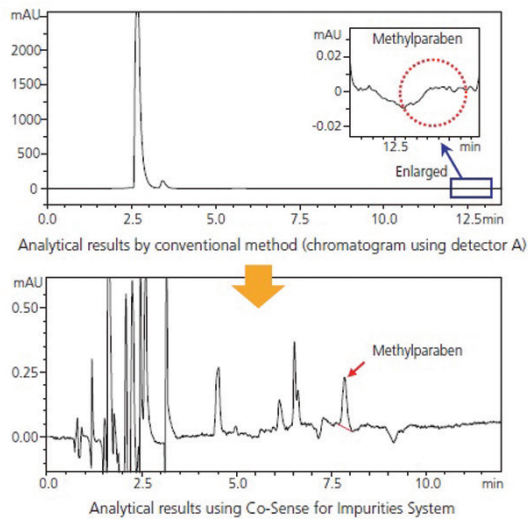
Co-sense impürite sistemi iz seviyedeki maddelerin analizi için ayrıca kütle spektrometre ile birlikte de kullanılıyor. Ultra yüksek performanslı LC çok daha hızlı analize olanak tanımak amacıyla MS dedektörün önünde front-end olarak kullanılıyor.

Kaynak:

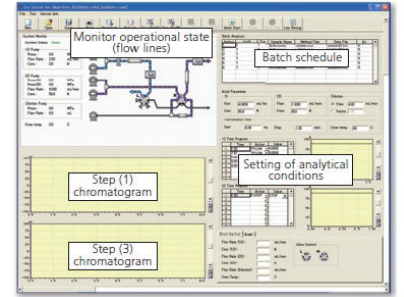
Shimadzu'nun Temmuz 2012 tarihli ve C190-E144 No'lu Teknik Raporu

Ayrıntılı bilgi almak için: www.antteknik.com

Şekil 4. Co-sense impürite sistemi uygulama örneği (2)



Şekil 5. Shimadzu co-sense impürite sistemi



Şekil 6. Co-sense impürite sistemi işlem penceresi



Şekil 7. Shimadzu'nun Ultra Hızlı Tandem Kuadropol LC/MS/MS Sistemi: Nexera + LCMS-8030



Şekil 8. Shimadzu'nun Tekli Kuadropol LC/MS Sistemi: Nexera + LCMS-2020