

# Az ionkromatográfia alkalmazhatóságának lehetőségei a gyógyszeranalitikában

Páll Boglárka<sup>1\*</sup> , Kormány Róbert<sup>1</sup> , Horváth Krisztián<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Egis Gyógyszergyár Zrt., Budapest, Magyarország

<sup>2</sup>Pannon Egyetem, Veszprém, Magyarország

\*Levelező szerző, e-mail: pall.boglarka@egis.hu

Beérkezett: 2022. augusztus 31.; elfogadva: 2023. január 11.

## Összefoglalás

Gyógyszermolekulák kémiai szintézissel történő előállítása során előfordulhat, hogy a szintézisút toxikus vegyületeket tartalmaz, vagy szintézis során képződik toxikus melléktermék. Ezeket az anyagokat alacsony koncentrációsinten kell kizárni a gyártott végtermékben, hogy az adott hatóanyag törzskönyvezése sikeres legyen. Így a genotoxikus (megváltoztatja a DNS által tárolt genetikai információt), rákkeltő szennyezők analitikai kontrollja folyamatos kihívás elé állítja az analitikusokat. Erre a vizsgálatra a legelterjedtebb módszer a nagyhatékonyságú folyadékromatográfia. Ennek egyik speciális változata, a nagyhatékonyságú ionkromatográfia alkalmas a kis méretű ionos vagy ionizálható molekulák, pl. szerves anionok és kationok, szerves savak, aminok, valamint hidrolizálható vegyületek vizsgálatára. A kéziratban bemutatásra kerül a nagyhatékonyságú ionkromatográfias technika, valamint annak gyógyszeranalitikai alkalmazása.

**Kulcsszavak:** ionkromatográfia, gyógyszeranalitika, szerves ionok

## Potential applications of ion chromatography in drug analysis

Boglárka Páll<sup>1</sup> , Róbert Kormány<sup>1</sup> , Krisztián Horváth<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Egis Pharmaceuticals PLC, Budapest, Hungary

<sup>2</sup>University of Pannonia, Veszprém, Hungary

## Summary

In the production of drug molecules, the synthesis pathway may contain toxic compounds, or a toxic by-product may be formed during synthesis. These substances must be excluded at low concentration levels in the final manufactured product in order for the registration of the active substance to be successful. The drug analytics task to quantify these contaminations. This part of the pharmaceutical industry involves a wide spectrum of analytical techniques, which together complement each other to give a complete picture of the product being manufactured. Measurement techniques range from titration to large instrumentation (mass spectrometry, nuclear magnetic resonance spectrometry). Chromatography is one of the most widely used techniques. Lots of pollutant which must have quantified, have polar properties and its may present a risk for patients. The analytical control of genotoxic (altering the genetic information stored in DNA), carcinogenic contaminants is a constant challenge for analysts. Organic acids, amines, acid chlorides which are easily ionizable, hydrolysable are difficult to analyze at low concentration limits by the means of gas chromatography or high performance liquid chromatography. For the analysis of such contaminants, the high performance ion exchange chromatography method is a possible solution. In drug analytics, the ion chromatography techniques (ion exchange, ion exclusion, ion pair, ligand exchange) are not as widely used as the other liquid chromatography methods. In addition to inorganic anions and cations, ion chromatography is a suitable chromatographic method for the analysis of organic acids, amines, and hydrolysable compounds. In case of amines, this technique has better peak symmetry and theoretical plate height than gas chromatography. However, additional acidic API may cause the disappearance of these peaks. With this instrument, not only impurities can be tested, but also the counter

ions of basic drug substances can be easily measured to verify the molecular composition of the active pharmaceutical ingredient. The manuscript describes the applications of ion exchange chromatography through some examples from pharmaceutical industry. In some cases, the methods have been validated according to international guidelines to demonstrate the applicability of high-performance ion exchange chromatography for the analysis of ionizable organic/inorganic compounds in pharmaceutical production.

**Keywords:** ion exchange chromatography, drug analysis, organic ions

## Előszó

A gyógyszeripar mint az egészségipar része, mind népegészségügyi, mind nemzetgazdasági szempontból stratégiai fontosságú ágazat, mely a nemzetközi piacon fokozott versenynek van kitéve. Megfelelő minőségű gyógyszerhatóanyagok és termékek előállításához elengedhetetlenül szükséges olyan analitikai módszerek fejlesztése, melyek megfelelnek a magas nemzetközi standardoknak. Ezen analitikai módszerek egyik legfontosabb technikája a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia, mely a gyógyszeripar mellett számos más területen nagy jelentőséggel bír. A hatékony analitikai módszerfejlesztés a szakmai tapasztalaton túl egyre inkább igényli a vizsgált vegyületek molekuláris sajátosságainak ismeretén alapuló, elméleti megközelítéseket alkalmazó fejlesztési és optimalizáló lépéseket. A Kooperatív Doktori Program keretében megvalósuló kutatási projektben a kísérleti munkát elméleti, modellezési feladatok egészítik ki, ideális mértékben ötvözve az alapkutatás jellegű vizsgálatokat az ezekre épülő innovatív módszerfejlesztési lépésekkel, egyszerre szolgálva ki az akadémiai szféra magas színvonalú publikációs igényeit és az ipari szegmens innovációra és hasznosíthatóságra vonatkozó törekvéseit. A fejlesztett módszerek validálása biztosíték azok gyógyszeripari hasznosíthatóságára.

*Horváth Krisztián  
témavezető, Pannon Egyetem*

## Bevezetés

A gyógyszer-engedélyeztetési eljárás során az adott termék gyártásához alkalmazott oldószerek, reagensek maradványainak vizsgálata, valamint mennyiségüknek meghatározása szükséges a termék biztonságosságának igazolására, mely feladat a gyógyszergyárak analitikai részlegeire hárul. Az engedélyeztetés során az adott ország/terület hatósági előírásainak kell megfelelni. Az évek (és az analitikai technikák fejlődése) során ezek a követelmények változnak, és egyre szigorúbb előírások lépnek életbe, mely fokozatos kihívást jelent a gyógyszer-analitikával foglalkozóknak. A hatóságok fokozatosan szigorodó elvárásai mellett egyre nagyobb hangsúlyt fektetnek a prospektív és retrospektív elemzésekre. Ezen vizsgálatokra példa a néhány éve előtérbe került Valsartan hatóanyag nitrózamin szennyezése, mely következtében nemcsak az új hatóanyagok esetében, hanem a régebben engedélyezett, adott körülmények között

Páll Boglárka Zsuzsa sikeresen végzi a 2021-ben megkezdett tudományos tevékenységét az Egis Gyógyszergyárban.

Boglárka egyik említésre méltó munkája az azid meghatározása cilostazol gyógyszerhatóanyagban, melyet sikeresen alkalmaz az Egis Gyógyszergyár, emellett tudományos cikk (*Páll et al. 2021*) és két hazai konferencia-előadás is született a témában.

Egy ipari kutató témaválasztását legtöbb esetben nem a szakmai érdeklődés, hanem a vállalati érdekek irányítják. Ez sokszor felülírja a tervezett kutatási tervet is, hiszen van úgy, hogy azonnal kell egy analitikai kérdésre tudományosan megalapozott választ adni, vagyis hogy a keresett anyagból valójában mennyit tartalmaz az adott minta. Így kaptunk egy olyan feladatot, hogy egy gyógyszerhatóanyagban határozzuk meg az acetaldehid mennyiségét, mert a gázkromatográfias mérés során a minta bomlik erre az anyagra. A probléma megoldására származékképzés utáni folyadékkromatográfias meghatározást választottunk. Ezzel a módszerrel már kellő pontossággal meghatározható az acetaldehid az adott hatóanyagban, illetve a módszer, néhány kritérium mellett, más hatóanyag esetében is alkalmazható.

Mindent figyelembe véve, Boglárka az Egisben kiválóan végzi a napi munkáját, és mellette a tudományos tevékenysége is a tervek szerint halad.

*Kormány Róbert  
vállalati szakértő, Egis Gyógyszergyár Zrt.*

gyártott termékek is górcső alá kerültek/kerülnek. A gyógyszeranalitika széles spektrumú, melynek elemei egymást kiegészítve együtt adnak egy teljes képet az adott gyártott termékről. A mérés technikák az egyszerű titrálástól a nagyműszeres készülékekkel (pl. tömegspektrométer, mágneses magrezonancia spektrométer) végzett mérésekig terjednek.

A kereskedelmi forgalomban lévő, ún. kismolekulás gyógyszerek, melyek előállítása legtöbb esetben kémiai szintézissel történik, gyártása során a felhasznált reagensek, vagy épp a szintézisben keletkező melléktermékek sok esetben kis molekulatömegű poláris vegyületek, melyek genotoxikus és rákkeltő hatásúak is lehetnek. Ezeket az anyagokat gyakran milliomod (part per million, ppm) szinten kell kizárni a végeredményben, ami 5-6 nagyságrendnyi különbséget jelent a hatóanyag és a szennyező koncentrációjában. Az ilyen kis koncentrációban meghatározandó szennyezők vizsgálata megfelelően érzékeny analitikai vizsgálati módszert követel meg. A legtöbb

esetben ez egy gáz- vagy folyadékkromatográfias elválasztást jelent tömegspektrometriás detektálással (GC/MS, LC/MS), azonban a fentebb említett kis molekula-tömegű poláris vegyületek esetén a GC/MS vagy LC/MS technika korlátozottan alkalmazható.

A kis molekula-tömegű, ionizálható vagy savvá hidrolizálható szerves vegyületek érzékenyen mérhetőek nagyhatékonyságú ionkromatográfias berendezéssel, ezen kívül sok esetben a méréseket megelőző minta-előkészítés is egyszerűbb lépéseket tartalmaz, mint az egyéb kromatográfias technikák.

A 2020-ban indult kutatás célja a gyógyszergyártás során a hatóanyagban maradt, illetve keletkező szennyezők vizsgálata (kis molekula-tömegű poláris vegyületek) nagyhatékonyságú ionkromatográfias rendszerrel. Ezeket a módszereket csak akkor lehet használni a végtermékek minősítésére, ha a módszer alkalmazhatósága bizonyításra kerül, vagyis validálni kell. A validálást a gyógyszeripari hatóságok irányelveinek figyelembevételével kell elvégezni.

### *Ionkromatográfia*

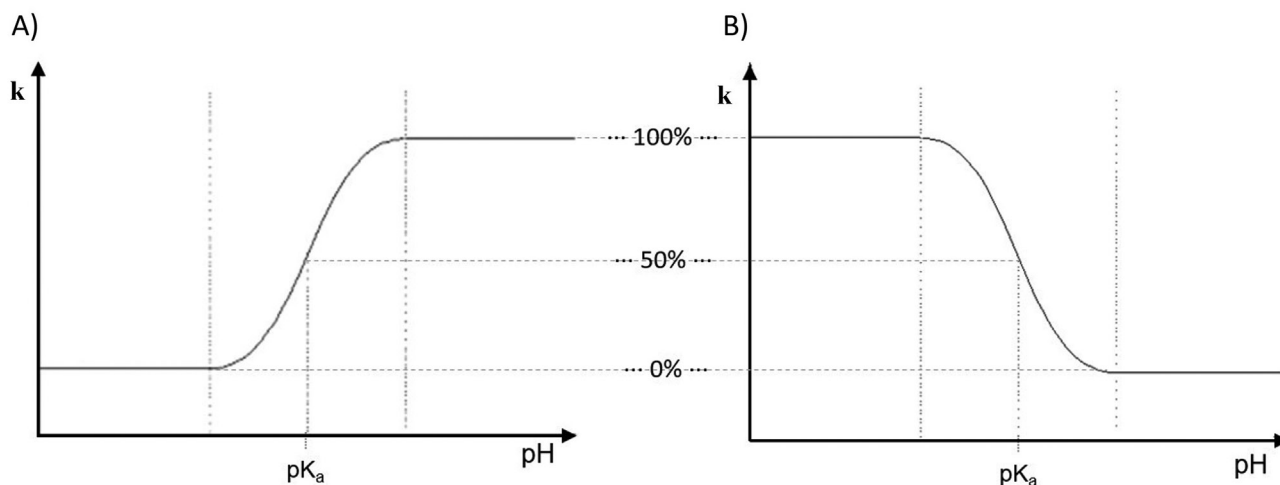
Definíció szerint az ionkromatográfia (ion chromatography, IC) ionos vagy ionizálható komponensek elválasztására, analitikai meghatározására alkalmas folyadékkromatográfias módszer (Fekete-Kormány-Fekete 2017). Az IC megszületéséig nem állt rendelkezésre olyan analitikai módszer, mely segítségével meghatározhatóvá vált anionok ppm-szintű vizsgálata egymás jelenlétében (Fekete 2003). A '70-es években a szervetlen anionok vizsgálata volt a cél, ám a technika fejlesztésével bővült a meghatározható ionok köre, és az ioncsere mellett további lehetőségek adódtak az ionok retenció mechanizmusai alapján, úgymint: ionkizárás, ligandumcsere. Ezen technikákkal meghatározható vegyületek főbb típusai: szervetlen ionok, szerves ionok (savak, bázisok, amino-

savak, peptidek), organo-metallo komplexek és szénhidrátok (Horváth 2013).

Gyógyszeranalitikai szempontból az IC alkalmazásának jelentősége a kis molekula-tömegű poláris, ionos vagy ionizálható komponensek vizsgálatában van. Ilyen vegyületek lehetnek az adott hatóanyag szintézise során alkalmazott reagensek maradékai, mellékreakció-termékek vagy maga a hatóanyag ionjai. Ezek sokszor gyenge savak vagy bázisok, melyek a pH-tól függően ionizált vagy ion-visszaszorított formában vannak. Az 1. ábrán látható savas, illetve bázikus vegyületek retenció tényezője a protonált ( $k_{HA}$ ) és a disszociált formák ( $k_A$ ) retenció tényezőjének molarányokkal ( $f_{HA}, f_A$ ) súlyozott összege:  $k = k_A \times f_A + k_{HA} \times f_{HA}$ . Mivel a protonált és disszociált specieszek molaránya a pH függvényében egy-egy szigmoid összefüggéssel írható le, ezért a retenció tényező-pH görbe is szigmoid (feltéve, hogy  $k_{HA}$  és  $k_A$  értéke eltér egymástól). Ezeknek megfelelően az ionkromatográfias rendszerben a vizsgálati körülményeket mindig úgy kell beállítani, hogy a vizsgálandó anyagok ionizált formában legyenek.

### *Nagyhatékonyságú ionkromatográfia*

Small és munkatársai már 1975-ben alkalmazták az ionkromatográfias módszert, mely során a kis ioncserező kapacitású mérőoszlop után ionelnyomást (szupresszállást) alkalmaztak, és a detektálás ionok mérésére alkalmas vezetőképesség-mérés elvén történt (Small 1989). Az ezt követő években más-más irányba indult el fejlesztés, egyrészt az ionelnyomó alkalmazásának elhagyására, másrészt pedig az ionelnyomó rendszer folytonos regenerálására. A napjainkban legelterjedtebben használt készülékek elvi felépítésükben nem sokban térnek el a kezdeti rendszerektől, ám a korral több olyan megoldást és funkciót kaptak, melyek lehetővé teszik bonyolult mátrixok esetében is a robusztus, ismételhető és pontos vizs-



1. ábra | Savas (A) és bázikus (B) jellegű funkciós csoportot tartalmazó vegyületek visszatartási tényezője a pH függvényében

Forrás: saját szerkesztés

gálatot. Ezt a modern technikát nevezték el nagyhatékonyságú ionkromatográfiának (high performance ion chromatography, HPIC). A 2. ábrán egy Dionex típusú, szuppresszált készülék látható vezetőképesség-mérő detektorral, mely Dionex által forgalmazott reagensmentes rendszerrel van ellátva.

A reagensmentes rendszer egy eluensgenerátor (eluent generator cartridge, EGC), mely a megfelelő koncentrációjú (1 mM – 100 mM) mozgófázist (kálium-hidroxid, metánszulfonsav stb.) elektrolitikus úton állítja elő. Ennek megvalósításához a generátor elektromosan polarizált ioncserélőt alkalmaz (Fekete 2003; Verma 2013). Ezen rendszer segítségével egy pumparendszer elegendő gradiens módszer futtatásához, valamint robusztus és reprodukálható vizsgálati módszerek fejlesztése lehetséges.

HPIC esetében lehetséges polimeralapú állófázisok, valamint szilikagél alapú állófázisok alkalmazása is a megfelelő pH-tartomány megválasztásával. A legelterjedtebben alkalmazott állófázisok az ún. latex agglomerált, sztirol-divinil-benzol alapú állófázisok. A latexalapú anioncserélők 5–25 µm átmérőjű felületileg szulfonált sztirol-divinil-benzol kopolimerből és az erre felvitt, elektrosztatikusan kötött teljesen aminált pórusos anioncserélő gyöngyökből állnak. Az utóbbi, ún. latex részecskék átmérője kb. 0,1 nm. Kationcserélők esetén a hordozó felülete aminált, a negatív töltést a latex részecskék szulfonocsoportjai biztosítják (Weiss 2016). Beszélhetünk gyenge és erős ioncserélőkről. Gyenge ioncserélők esetében a pH függvényében változik az ioncserélő-kapacitás, például: karboxil-csoport (kationcserélő) vagy primer, szekunder, tercier aminok (anioncserélők). Erős ioncserélők: kvaterner ammónium (anioncserélő) és szulfonsav (kationcserélő) funkciókat tartalmazó állófázisok. A legtöbb vizsgálat esetén karbonát/bikarbonát, kálium-hidroxid, nátrium-

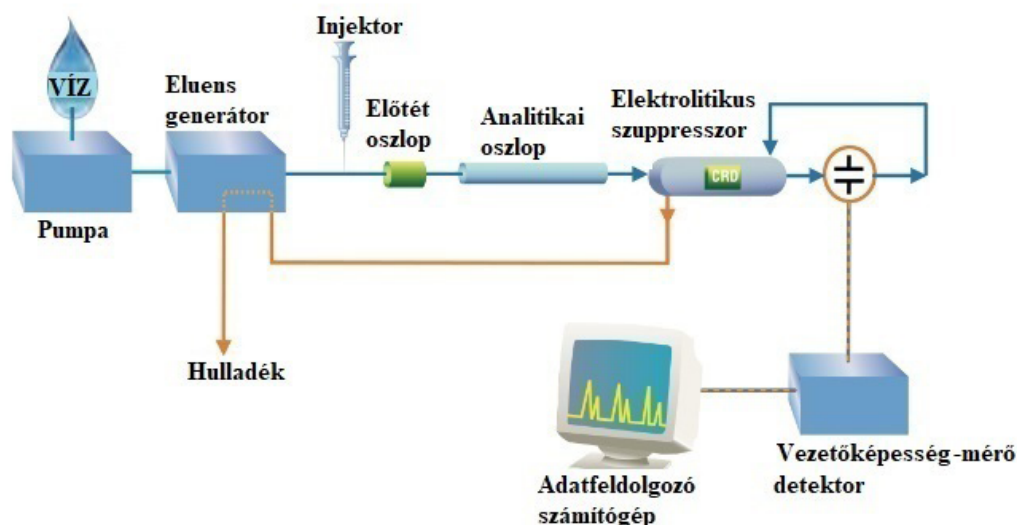
hidroxid és metán-szulfonsav mozgófázist alkalmaznak. Az eluens magas iontartalma miatt alkalmazott szuppresszor lehetővé teszi kis mennyiségű akár ppb (part per billion) szinten lévő ionok vizsgálatát is. Kezdetben szuppresszorként nagy ioncsere-kapacitású, a mérőoszloppal ellentétes ioncserélő oszlopot alkalmaztak, melyet áttörés után regeneráltak. A későbbiekben egy automatizált rendszert alakítottak ki, mely segítségével online történik a regenerálás, valamint megjelentek az elektrokémiai ioncserélőmembrán-szuppresszorok (3. ábra).

A detektorok esetében a vezetőképesség-mérő detektor egy általánosan alkalmazott detektor, mind anionok, mind kationok esetében. Ezen detektálás mellett az UV-detektor is alkalmazható olyan esetekben, ahol a vizsgálandó ionnak UV-elnyelése van. Ez a fajta detektálási mód például nitrit és nitrátok vizsgálatánál használható, mely segítségével az egyéb zavaró (pl. klorid) ion nem jelenik meg a kromatogramon.

## Alkalmazások

A HPIC leggyakrabban alkalmazási területei a félvezető ipar, ivóvíz-szolgáltatás, környezetanalitika, élelmiszeripar stb. Legelterjedtebb hasznosítása szerves ionok vizsgálata vízmintákból, melyek eredhetnek ivóvízből, szennyvízből, környezeti vízmintából vagy esetleg atomreaktor hűtőközegeként alkalmazott vízből.

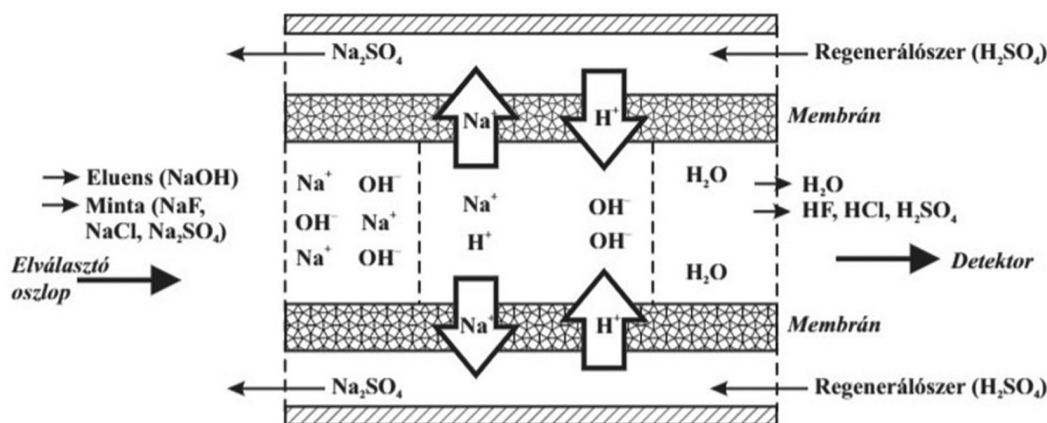
A gyógyszer-analitikában a HPIC nem tartozik a legelterjedtebben alkalmazott mérés technikák közé, de rendkívül hasznos lehet a szerves ionok mellett kis molekulatömegű hidrofil, ionizálható vegyületek meghatározására. Gyógyszerhatóanyagok esetében a szerves ionok vizsgálata, a sótartalmú hatóanyag iontartalmának vizsgálata melletti feladatként adódhat az esetlegesen egyéb szennyezésként jelen lévő szerves ionok meghatározása is. Mindezek mellett fontos analiti-



2. ábra

Dionex HPIC rendszer felépítése

Forrás: <https://www.thermofisher.com>



3. ábra | Elektrokémiai anioncserélőmembrán-szuppresszor felépítése  
Forrás: Horváth 2013

kai módszer lehet a 2018 óta rengeteg analitikust foglalkoztató nitrózaminok vizsgálata során a nitrit (nitrózaminok kiindulási anyagaként tartják számon) ionok meghatározása, mely megoldható különböző gyógyszerhatóanyagokból (Hu-Rohrer 2021).

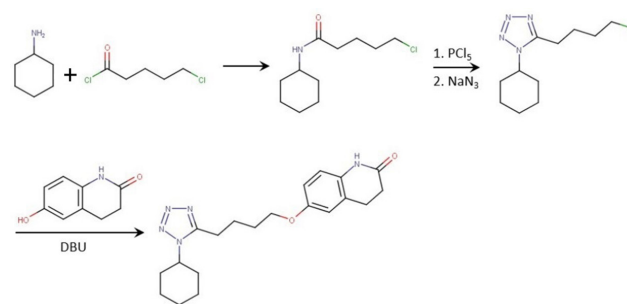
Gyakran előforduló feladat ecetsavszenyezés mennyiségi meghatározása a gyártott gyógyszerhatóanyagokban. Ez a szennyező megfelelő körülmények között jól vizsgálható gázkromatográfias rendszerrel, abban az esetben, ha a vizsgálandó mátrix ezt nem befolyásolja. A gázkromatográfias elemzés erős sav jelenlétében történik. Ilyen módszer esetében a kérdéses mintaszükséglet legalább 20 mg kell hogy legyen a megfelelő érzékenység eléréséhez, a visszanyerés vizsgálatokor kapott eredményt pedig jelentősen befolyásolja a hatóanyag mátrixa. Az ecetsav, helyesebben az acetátion, ezzel szemben ionkromatográfias technika segítségével kis mintaigénnyel (100 µg) is érzékenyen, pontosan (közel 100%-os visszanyerés), gyorsan mérhető szerves ion, természetesen a hatóanyag mátrixától függő bonyolultságú minta-előkészítési lépéssel. Az ionkromatográfia mint folyadékkromatográfias technika, elméleti tányérszám tekintetében elmarad gázkromatográfias társától, ugyanakkor ez a gyakorlatban nem befolyásolja a módszer teljesítőképességét.

Az ionkromatográfia nemcsak egyszerű ionok mérésére alkalmas, hanem minden olyan szerves vegyület esetében, mely víz, sav vagy lúg hatására képes hidrolizálni és mérhető ion képződik. Ilyen vegyületekre jó példák a szerves sav-halogenidek (pl. acetyl-klorid), melyek a levegő víztartalmával is képesek reagálni, így vizsgálatuk rendkívül összetett lehet. Az acetyl-klorid esetében egy vizes oldás segítségével az acetátion és a keletkező sósav kloridionja is mérhető egy kromatográfias vizsgálat alkalmával. Nemcsak anionok tekintetében ad előnyt egy ilyen rendszer, hanem kis mennyiségű amin (primer, szekunder, tercier) meghatározása is lehetővé válik egy savas hatóanyag mellett, hiszen ezen aminok számára az ionizáláshoz kedvezőek a feltételek. Ennek igazolására Hu

Jingli és társai (Hu-Rohrer-Christison 2021) dimetilamin mint vizsgáltak több gyógyszerhatóanyagban és dimetilaminra a legkisebb kimutatási koncentráció kevesebb mint 1 ppm-nek adódott.

### Azid meghatározása cilostazolban

A kutatási munka részeként a cilostazol hatóanyag azid-szenyezés tartalmának meghatározása volt az egyik feladat, ugyanis a hatóanyag szintézise során felhasználják a tetrazolgyűrű kialakításához (Páll et al. 2021). A cilostazol egy lehetséges szintézisútja a 4. ábrán látható (Kleemann 2008).



4. ábra | Cilostazol hatóanyag lehetséges szintézisútja (DBU: 1,8-Diazabicyclo [5.4.0] undec-7-én)  
Forrás: Kleemann 2008

A nátrium-azid genotoxikus szennyezőnek minősül. Az ilyen típusú anyagok kimutatására és mennyiségi meghatározásukra speciális irányelvek vonatkoznak. Nemzetközi irányelvek előírják, hogy maximálisan mennyi lehet ilyen szennyezőből az adott hatóanyagban, természetesen, ehhez figyelembe veszik az adott hatóanyag maximális napi dóziséját is. Az ICH (International Council of Harmonisation – Nemzetközi Harmonizációs Konferencia) irányelvek figyelembevételével a cilostazol hatóanyagban a maximális megengedett nátrium-azid kon-

Futási idő	:	40 perc
Eluens	:	KOH
Eluens áramlási sebesség	:	0,50 mL/perc
Gradiens program		
15 mM (5 perc) $\xrightarrow{3 \text{ perc}}$ 80 mM (12 perc) $\xrightarrow{3 \text{ perc}}$ 15 mM (17 perc)		
Hőmérsékletek		
Mintaadagoló	:	15 °C
Kolonna	:	40 °C
Detektor cella	:	35 °C
Szuppresszor		
19 mA (7 perc) $\rightarrow$ 99 mA (18 perc) $\rightarrow$ 19 mA (15 perc)		
Injektált térfogat	:	5,0 $\mu$ L

5. ábra | Mérőmódszer beállításai  
Forrás: Páll 2021

centráció 7,5 ppm (ICH 2017). Ilyen alacsony határértéken történő kimutatása ennek a szennyezésnek – mely rendkívül reaktív – lehetetlen származékképzési reakció alkalmazása nélkül.

### Vizsgálati anyagok és módszerek

A mérésekhez analitikai tisztaságú dimetil-szulfid, metilén-klorid (Fisher Scientific, UK) és nátrium-azid (Sigma-Aldrich, Germany) lett alkalmazva. A cilostazol hatóanyagot az Egis Gyógyszergyár biztosította. A vizet frissen egy ELGA Purelab víztisztító rendszer biztosította (ELGA, Lane End, UK).

A vizsgálatok Dionex ICS 5000 HPIC rendszerrel történtek, mely eluensgenerátorral és szuppresszált vezetőképeség-mérő detektorral rendelkezik (Thermo Sci-

entific, US). Az anioncserélő oszlop Dionex IonPac AS11HC (2  $\times$  250 mm) a hozzá tartozó előtét oszloppal AG11HC (2  $\times$  50 mm) (Thermo Scientific, US).

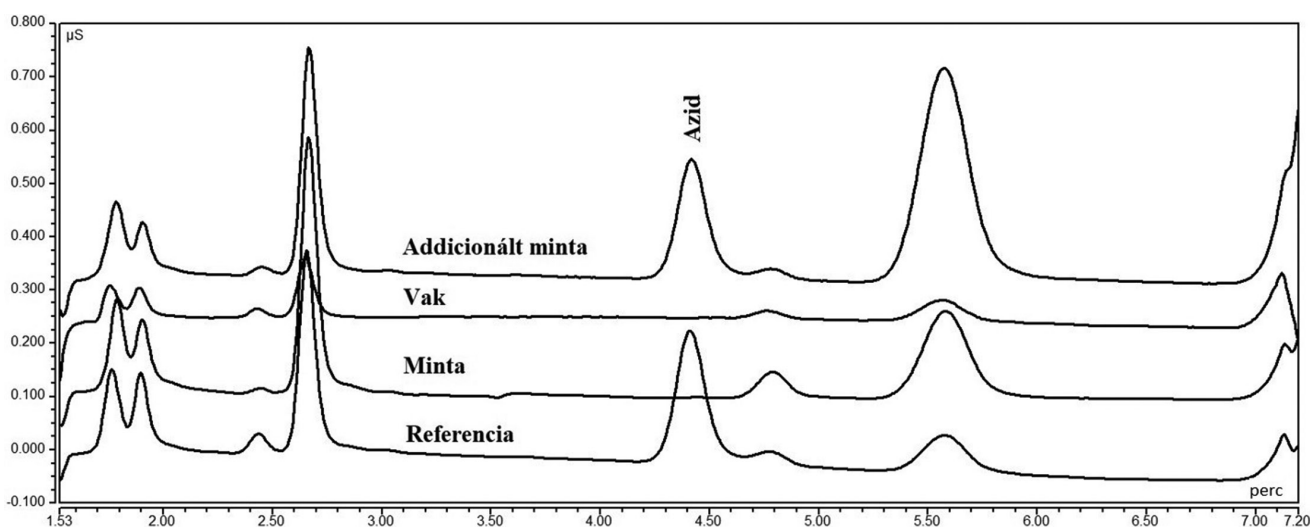
A kapott kromatogramok kiértékelése Chromeleon 7. szoftverrel történt (Thermo Scientific, US).

A vizsgálat során a folyadék-folyadék extrakció – diklórmetán és víz 1:1 arányú keveréke – segítségével egy lépésben történik az azidion extrakciója a vizes fázisba, valamint a hatóanyag mátrix eliminációja. A minta-előkészítés során a nátrium-azid törzsoldat dimetil-szulfidban készül, majd ebből hígítással kerül a diklórmetán oldószerbe. Ezután az átrázott referenciaoldat koncentrációja 0,75  $\mu$ g/mL nátrium-azidra nézve, míg az átrázott elméleti mintaoldat koncentrációja 100 mg/mL a vizes fázisban a diklórmetános fázisból átrázva. A mérőmódszer a megfelelő optimalizálás után az 5. ábrán látható.

### Vizsgálati eredmények

A megfelelően optimalizált mérőmódszer validálása nemzetközi guideline (ICH Q2 R1) figyelembevételével limit szinten történt. Az ICH ilyen esetekben csak a specifikusság, valamint a detektálhatósági alsó határ kimérését teszi kötelezővé (ICH 2005), viszont a módszer alkalmazhatóságának igazolására több vizsgálat is történt. A vizsgálatok eredményei az 1. táblázatban láthatóak. A módszer alkalmazása során kapott tipikus kromatogramok a 6. ábrán láthatóak. A validálás után a vizsgált cilostazol sarzok egyikében sem volt detektálható mennyiségben nátrium-azid.

A vizsgált paraméterek megfelelnek a felállított követelményeknek. A mérőmódszer igazoltan alkalmazható nátrium-azid-szennyezés meghatározására cilostazol hatóanyagban.



6. ábra | Reprezentatív kromatogramok (vakoldat, referenciaoldat, mintaoldat, addicionált mintaoldat)  
Forrás: Páll 2021

1. táblázat | Limitszintű validálás során vizsgált paraméterek és eredményeik

Vizsgált paraméter	Eredmény	Követelmény
<b>Specifikusság</b>		
Retenciósi idő ( $t_R$ , perc)	4,41	–
Visszatartási tényező ( $k$ ; $t_0 = 1,5$ perc)	2,94	1–10
Elméleti tányérszám	5097	$\geq 2000$
Szimmetriafaktor ( $A_s$ )	1,1	$\leq 1,5$
<b>Meghatározás alsó határa</b> (ppm, $J/Z = 3$ )	0,5	$\leq 2,25$
<b>Mennyiségi mérés alsó határa</b> (ppm, $J/Z = 10$ )	1,7	$\leq 7,5$
<b>Rendszerprecizitás (7,5 ppm)</b>		
Retenciósi idő (% RSD%)	0,14	$\leq 5,0$
Terület (% RSD%)	16,5	$\leq 20,0$
<b>Pontosság (7,5 ppm)</b>		
Visszanyerés (%)	102,4	75–125

Forrás: Páll 2021

## Összefoglalás

A bemutatott példák segítségével belátható, hogy az ionkromatográfának helye van a gyógyszer-analitikai módszerek között, mégpedig kiegészítve a gázkromatográfias és nagyhatékonyságú folyadékkromatográfias elemzéseket, melyek így együtt adhatnak teljes szennyezési profilt, illetve tartalmi eredményeket az adott gyógyszerhatóanyagról. E közlemény a teljesség igénye nélkül ad egy átfogó képet ezen technikáról és alkalmazhatóságáról a gyógyszerhatóanyagok vizsgálata terén. A távlati tervek között szerepel további olyan szennyezők vizsgálata, melyek meghatározása problémát jelenthet egyéb kromatográfias technikák számára, valamint ezen módszerek nemzetközi előírások szerinti validálásával egyértelmű igazolást adni az ionkromatográfia létjogosultságának a gyógyszer-analitika terén.

## Köszönetnyilvánítás

A 999770 számú projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a KDP-2020 pályázati program finanszírozásában valósult meg.



## Irodalomjegyzék

- Fekete J. (2003) Környezetvédelmi analitika. Budapest, Jáva-98 Kft., pp. 599–651.
- Fekete J., Kormány R., & Fekete Sz. (2017) Modern folyadékkromatográfia. Budapest, KromKorm Kft., pp. 463–480.
- Horváth K. (2013) Ionkromatográfia. Oktatási segédanyag a „Korszerű környezetanalitikai módszerek” c. tárgyhoz. Veszprém, pp. 7–33.
- Hu, J. & Rohrer, J. (2021) Determination of nitrite in pharmaceuticals. Thermo Fisher Scientific Sunnyvale, USA Thermo Fisher Scientific Inc. Application Note 73987
- Hu, J., Rohrer, J. & Christison, T. (2021) Determination of dimethylamine and nitrite in pharmaceuticals by ion chromatography to assess the likelihood of nitrosamine formation. Heliyon, Vol. 7. Issue 2. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06179>
- ICH (2017) ICH Guidance for Industry M7(R1), Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk (2017) (CHMP/ICH/83812/2013). Geneva, Switzerland
- ICH (2005) ICH Guidance for Industry Q2(R1), Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology (2005). Geneva, Switzerland
- Kleemann, A. (2008) Cardiovascular Drugs. In: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry; American Cancer Society: Atlanta, USA
- Páll, B., Gyenge, Z., Kormány, R. & Horváth, K (2021) Determination of Genotoxic Azide Impurity in Cilostazol API by Ion Chromatography with Matrix Elimination. Separations, Vol. 8. No. 10. 162. <https://doi.org/10.3390/separations8100162>
- Small, H. (1989) The Chromatographic Process. In: Ion Chromatography. Modern Analytical Chemistry. Boston, Springer, pp. 11–39. [https://doi.org/10.1007/978-1-4899-2542-8\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4899-2542-8_2)
- Verma, M. (2013) What is Eluent Generation? Thermo Fisher Scientific, Sunnyvale, Sunnyvale. USA, Thermo Fisher Scientific Inc., White paper 70607
- Weiss J. & Shpigun, O. (2016) Handbook of Ion Chromatography. Vol. Set 3., 4th Edition, Weinheim, Wiley