

**T.C.  
KIRKLARELİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI**

**TABLET FORMU İLAÇLARDA 1. SINIF VE 2A SINIFI ELEMENTAL İMPÜRİTE  
DEDEKSİYONU İÇİN AAS İLE METOT GELİŞTİRME**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Serafettin Yiğit SAIN**

**TEMMUZ - 2021**

**T.C.  
KIRKLARELİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI**

**TABLET FORMU İLAÇLARDA 1. SINIF VE 2A SINIFI ELEMENTAL  
İMPÜRİTE DEDEKSİYONU İÇİN AAS İLE METOT GELİŞTİRME**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Serafettin Yiğit SAIN**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Cemile ÖZCAN**

**Temmuz – 2021**

## ETİK BEYAN

Kırkırelı Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez ve Proje Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında; tez içinde sunduğum bilgileri, verileri ve dokümanları, değişik sonuç verebilecek şekilde araştırma araç gereçleri kullanmadan, işlem veya kayıt sonuçlarını değiştirmeden akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Serafettin Yiğit SAİN  
14/07/2021

## ÖZET

### **TABLET FORMU İLAÇLARDA 1. SINIF VE 2A SINIFI ELEMENTAL İMPÜRİTE DEDEKSİYONU İÇİN AAS İLE METOT GELİŞTİRME**

Serafettin Yiğit SAİN

Yüksek Lisans Tezi

Kırklareli Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Danışman: Doç. Dr. Cemile ÖZCAN

Temmuz 2021, 42 sayfa

22 Mart 2019 tarihinde yayımlanan uluslararası uyum konferansı kılavuzu ICH Q3D(R1) 'e göre, ilaçlarda indüktif eşleşmiş plazma (ICP) analizi uygulanarak elemental impüriteler için sınır konsantrasyonların belirlenebileceği yöntemler açıklandı.

ICP cihazlarının bulunabilirliği zor ve sıfırdan temininin maliyetli olmasından dolayı, laboratuvarlarda daha sık bulunan ve yoğun olarak kullanılan atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS) ile aynı numune hazırlama teknikleri ile AAS cihazı kullanılarak metot adaptasyonu sağlandı. ICH kılavuzu en düşük tespit ve kantitatif dedeksiyon limitleri, grafit fırın atomik absorpsiyon spektroskopisi (GF AAS) cihazının tespit limitlerine uygundur.

İlgili kılavuzda belirtilen en kritik ve limiti en düşük 1. Sınıf ve 2A sınıfı metallerin en sık kullanılan tablet formundaki ilaç numuneleri için metot geliştirme ve validasyonu çalışmaları gerçekleştirildi. 1. Sınıf arsenik (As), kadmium (Cd), civa (Hg), kurşun (Pb), ve 2A sınıfı kobalt (Co), nikel (Ni), vanadyum (V). Örnek hazırlama mikrodalga destekli fırında, %65 HNO<sub>3</sub> ve %37 HCl (5:1, h/h) karışımı asitle yakma kullanılarak gerçekleştirildi.

**Anahtar Kelimeler:** Elemental İmpürite, Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi, Metot Validasyonu, Tablet İlaçlar.

## ABSTRACT

### DEVELOPMENT AND VALIDATION OF AN AAS METHOD FOR QUANTITATION OF CLASS 1 AND CLASS 2A ELEMENTAL IMPURITIES IN TABLETS

Serafettin Yiğit SAİN

MSc Thesis

Kirklareli University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Supervisor: Doç. Dr. Cemile ÖZCAN

July 2021, 42 pages

According to the international harmonization conference guide ICH Q3D (R1) published on March 22, 2019, the methods by which the limits for elemental impurities can be determined by applying inductively coupled plasma (ICP) analysis in drugs were anHayirunced.

Due to the difficult availability of ICP devices and the cost of procurement from scratch, method adaptation was achieved using the same sample preparation techniques as atomic absorption spectroscopy (AAS), which is more common in laboratories and the AAS device. The ICH guide complies with the lowest detection and quantitative detection limits, detection limits of graphite furnace atomic absorption spectroscopy equipment (GF AAS).

Method development and validation studies were carried out for the most critical and the worstcase limit Class 1 and Class 2A metals specified in the relevant guideline, and the drugs in tablet form samples which are used most frequently. Class 1 arsenic (As), cadmium (Cd), mercury (Hg), lead (Pb), and class 2A cobalt (Co), nickel (Ni), vanadium (V). Sample preparation was performed by microwave-assisted acid digestion using a mixture of 65% HNO<sub>3</sub> and 37% HCl (5:1, v/v).

**Keywords:** Elemental Impurity, Atomic Absorbtion Spectroscopy, Method Validation, Heavy Metals, Tablet Drugs.

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimin danışmanlığını üstlenen, tez çalışmalarım boyunca yardım ve desteklerini esirgemeyen çok değerli hocam Doç. Dr. Cemile ÖZCAN'a ve çalışmalarımda bana yardımcı olan Arş. Gör. Dr. Fatma KURŞUN'a, ayrıca hep yanımda olan sevgili arkadaşlarım Kerem DÖRTKOL ve Neslihan DÖRTKOL'a, çok teşekkür ederim.

Bütün kararlarımda arkamda olan, ilgi, destek ve sevgilerini her daim hissettiğim, eşim Aylin SAIN ve kızım Nil SAIN'e sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışmaya maddi destek sağlayan Kırklareli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsüne, desteklerinden dolayı anabilim dalımızdaki tüm hocalarıma ve sevgili arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	<b>İV</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>V</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>VI</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>VII</b>
<b>ÇİZELGELERİN LİSTESİ</b> .....	<b>VIII</b>
<b>ŞEKİLLERİN LİSTESİ</b> .....	<b>İX</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	<b>X</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI</b> .....	<b>3</b>
2.1. İlaçlarda Elemental İmpüriteler .....	3
2.2. Elementlerin Sınıflandırılması.....	4
2.3. Tez Çalışması için Elementlerin Seçimi.....	6
2.4. Literatür Araştırması.....	7
<b>3 MATERYAL VE DENEYSEL YÖNTEM</b> .....	<b>11</b>
3.1. Reaktif ve Çözeltiler .....	12
3.2. Cihaz ve Cihaz Parametreleri .....	12
3.3. Standart ve Referans Çözeltilerin Hazırlanması.....	12
3.4. Çalışma Prosedürü.....	13
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA</b> .....	<b>15</b>
4.1. Cd Elementi Validasyon Çalışması .....	15
4.2. Pb Elementi Validasyon Çalışması.....	17
4.3. As Elementi Validasyon Çalışması .....	18
4.4. Hg Elementi Validasyon Çalışması.....	20
4.5. Co Elementi Validasyon Çalışması .....	21
4.6. V Elementi Validasyon Çalışması .....	23
4.7. Ni Elementi Validasyon Çalışması.....	24
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER</b> .....	<b>27</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>29</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>31</b>

## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge 2.1. Risk değerlendirmesinde dikkat edilecek elementler .....	5
Çizelge 3.1. Validasyon Protokolü .....	11
Çizelge 3.2. GFAAS’de analizi yapılan elementlerin cihaz parametreleri.....	12
Çizelge 3.3. Mikrodalga çözünürleştirme koşulu .....	13
Çizelge 4.1. Cd metali validasyon sonuç çizelgesi (n=6).....	15
Çizelge 4.2. Pb metali validasyon sonuç çizelgesi (n=6) .....	17
Çizelge 4.3. As metali validasyon sonuç çizelgesi (n=6) .....	18
Çizelge 4.4. Hg metali validasyon sonuç çizelgesi (n=6).....	20
Çizelge 4.5. Co metali validasyon sonuç çizelgesi (n=6).....	21
Çizelge 4.6. V metali validasyon sonuç çizelgesi (n=6).....	23
Çizelge 4.7. Ni metali validasyon sonuç çizelgesi (n=6) .....	24



## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil 4.1. Cd'nin kalibrasyon grafiği.....	16
Şekil 4.2. Cd metali "Numune 1 ve 2" absorbands zaman grafiği .....	16
Şekil 4.3. Pb'nin kalibrasyon grafiği .....	17
Şekil 4.4. Pb metali "Numune 1 ve 2" absorbands zaman grafiği.....	18
Şekil 4.5. As'nin kalibrasyon grafiği.....	19
Şekil 4.6. As metali "Numune 1 ve 2" absorbands zaman grafiği .....	19
Şekil 4.7. Hg kalibrasyon grafiği.....	20
Şekil 4.8. Hg metali "Numune 1 ve 2" absorbands zaman grafiği .....	21
Şekil 4.9. Co'nun kalibrasyon grafiği.....	22
Şekil 4.10. Co metali "Numune 1 ve 2" absorbands zaman grafiği .....	22
Şekil 4.11. V'nin kalibrasyon grafiği .....	23
Şekil 4.12. V metali "Numune 1 ve 2" absorbands zaman grafiği .....	24
Şekil 4.13. Ni'nin kalibrasyon grafiği .....	25
Şekil 4.14. Ni metali "Numune 1 ve 2" absorbands zaman grafiği.....	25

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

### Simgeler

### Açıklamalar

<b>L</b>	Litre
<b>mL</b>	Mili litre
<b>µL</b>	Mikro litre
<b>g</b>	Gram
<b>µg</b>	Mikro gram
<b>ppm</b>	Milyonda bir
<b>ppb</b>	Milyarda bir

### Kısaltmalar

### Açıklamalar

<b>AAS</b>	Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi
<b>GFAAS</b>	Grafit Fırın Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi
<b>ICH</b>	Uluslararası İlaç Uyum Konferansı
<b>ICP</b>	İndüktif Eşleşmiş Plazma
<b>ICP-OES</b>	İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektroskopisi
<b>ICP-AES</b>	İndüktif Eşleşmiş Plazma Atomik Emisyon Spektroskopisi
<b>ICP-MS</b>	İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektroskopisi
<b>MS</b>	Kütle Spektroskopisi
<b>PDE</b>	İzin Verilen Günlük Maruziyet
<b>USP</b>	Amerika Farmakopesi
<b>LA-ICP-MS</b>	Lazer Aşındırılmalı ICP-MS

## 1. GİRİŞ

Uzun zamandır dünyadaki her sektörde olduğu gibi ilaç sektörü içerisinde de kalite risk yönetimi, ürün yaşam döngüsü boyunca ilaç (tıbbi) ürününün kalitesine yönelik risklerin değerlendirilmesi ve kontrolü için sistematik bir süreç işlemektedir. İnsanlığın İlaçları Kullanımındaki Teknik Gereksinimlerin Entegrasyonunu Sağlayan Uluslararası Konsey (ICH), eczacılık ile ilgili ürün geliştirme ve tescilinin bilimsel ve teknik yönlerini tartışmak için düzenleyici otoriteleri ve ilaç endüstrisini bir araya getiren bir girişimdir. Özellikle, ilaç üretiminde doğrudan veya dolaylı olarak ortamda tespit edilen ağır metaller uluslararası bilim duayenleri tarafından tartışılmaktadır. Uluslararası ilaç şirketlerinin birlikte mutabık kaldığı ağır metal konusu, 22 Mart 2019 tarihinde yayımlanan uluslararası entegrasyon konferansı kılavuzu “ICH Q3D(R1)” ile ilaç sektörü içerisine uyarlanmıştır [1]. Bu kılavuz yardımıyla bir ilacın üretiminden-piyasaya sürülmesine kadar temasta olduğu tüm süreci değerlendirerek elementlerin safsızlık-kritik eşik limitlerini tanımlamaktadır. Bu limitlere göre yapılacak değerlendirmelerde kullanılacak analiz metotları da ilgili kılavuzda atıflarla tanımlanmış ve değerlendirilip ürünlerin piyasaya sürülebilmesi açısından kritik veriler olduğu vurgulanmıştır. ICH'e göre, farmasotik preparatlar üretilirken kalite alanındaki uyumlaştırma başarıları, stabilite çalışmalarının yürütülmesi, safsızlık testi için ilgili eşiklerin tanımlanması ve İyi Üretim Uygulamaları (GMP) risk yönetimine dayalı önemli yaklaşımları içermektedir [3].

İlgili atıflarda metal analizleri için ICP cihazı önerilmektedir [2]. ICP cihazlarının bulunabilirliği zor ve sıfırdan temininin maliyetli olmasından dolayı, laboratuvarlarda daha sık bulunan ve yoğun olarak kullanılan atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS) cihazı kullanılarak aynı numune hazırlama teknikleri ile metot adaptasyonunun sağlanması amaçlanmaktadır. ICH kılavuzundaki metaller için verilen en düşük tespit ve kantitatif dedeksiyon limitleri, grafit fırın atomik absorpsiyon spektroskopisi (GFAAS) cihazının tespit limitlerine uygundur [4]. Tüm bunların ışığında GFAAS cihazına göre metot tasarlanıp, ICH Q2'ye göre validasyonunun yapılması planlanmaktadır.



## 2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. İlaçlarda Elemental İmpüriteler

Eczacılık ürünlerindeki temel safsızlıklar hammadde ve yardımcı maddelerinin üretiminden son bitmiş ürün üretim yerine gelip üretim basamakları gibi çeşitli kaynaklardan gelebilmektedir ki; bunlar, sentez işleminde kullanılması zorunlu olan katkı maddeleri (katalizörler gibi), işletmedeki ekipmanlar veya kullanılan kap/kapak sistemleri ile etkileşimden kaynaklı olabilir. Elemental impüriteler (safsızlıklar) hastaya herhangi bir terapötik (tedavi edici) fayda sağlamadığından dolayı, ilaç ürününde kabul edilebilir sınırlar içinde tutulmaları gerekmektedir. Bu kılavuzun üç ana bölümü vardır:

- Potansiyel temel safsızlıklar için toksisite verilerinin değerlendirilmesi,
- Toksikolojiyi ilgilendiren her bir element için izin verilen günlük maruziyet (PDE= The Permitted Daily Exposure)'in belirlenmesi,
- İlaç ürünlerindeki elemental safsızlıklar kontrol etmek için risk temelli bir yaklaşımın uygulanması.

İlaç ürünlerindeki temel safsızlıkların PDE'leri aşmaması koşuluyla, ilaç üretim prosesinde başvuru sahibinin işlem-üretim kapasitesine herhangi bir zorunluluk getirilmemektedir. Bu kılavuzda ilaçlardaki PDE'lerin tüm hasta popülasyonlarının sağlıkları için koruyucu tedbirler önerdiği görülmektedir. Bazı ilaç ürün özelliklerindeki bilgiler (katalizle bozulma gibi), kaliteyi olumsuz etkilediği gösterildiğinde toksisite eşiklerinin seviyesindeki temel safsızlıklar belirlendiği anda ilacın üretiminin durdurulmasını garanti edilebilmektedir [1].

Ayrıca, bu kılavuz, ICH Q9'da risk yönetimi ilkelerini kullanan ilaç ürünündeki temel güvenliği kontrol etmek için bir süreç sunmaktadır. Bu süreç, ilaç ürünündeki temel safsızlıklar (ham maddelerin, çözücülerin, yardımcı maddelerin, ambalajlama ve etiketleme malzemelerinin kullanımı dahil) sınırlandırmak için riske karşı bir kontrol stratejisi geliştirmek için bir platform sağlamaktadır [5].

## 2.2. Elementlerin Sınıflandırılması

ICH kılavuzunda yer alan elementler, onların toksisitelerine ve ilaç ürünündeki oluşma olasılıklarına göre üç sınıfa ayrılmıştır ve gerçekleşme olasılığı aşağıdakiler dahil çeşitli faktörlerden türetilmiştir. Bunlar: farmasötik proseslerde kullanım olasılığı, farmasötik işlemlerde kullanılan malzemelerdeki diğer elemental safsızlıklar ile izole edilmiş bir safsızlığın olma ihtimali, elementin gözlemlenen doğal bolluğu ve çevresel dağılımıdır. Kılavuzun amaçları doğrultusunda, düşük doğal bolluğa sahip bir element "1 atom/10<sup>6</sup> silisyum atomu" olduğu bildirilen doğal bolluğa sahip bir elementi ifade eder [6]. Sınıflandırma şeması çok toksik elementler üzerine risk değerlendirmesine ve aynı zamanda ilaç ürününe dahil olma olasılığına da odaklanmayı amaçlamaktadır (Çizelge 2.1). Temel safsızlık sınıfları şunlardır:

Sınıf 1: As, Cd, Hg ve Pb elementleri, eczacılık ürünlerinin üretiminde sınırlı kullanımı olan veya hiç kullanılmayan toksik maddelerin başında gelir. İlaç ürünlerindeki varlıkları genellikle yaygın olarak kullanılan malzemelerden kaynaklanmaktadır. Eşsiz doğaları nedeniyle, bu dört element için tüm potansiyel kaynaklar arasında elemental safsızlıklar ve uygulama yollarının arasındaki risk değerlendirmesini gerektirir. Risk değerlendirmesinin sonucu bazı durumlarda Sınıf 1 elementlerinin test edilmesini içerebilen ek kontroller gerektirebilecek bileşenleri belirleyecektir. Tüm bileşenlerin Sınıf 1 elemental safsızlıklar için testin gerekmesi beklenmemektedir; test yalnızca PDE'nin karşılanmasını sağlamak için uygun kontrol olarak risk değerlendirmesi tanımlandığı zaman uygulanmalıdır.

Sınıf 2: Bu sınıftaki elementler genellikle kullanım yoluna bağlı insan toksik elementleri olarak kabul edilir. Sınıf 2 elementleri, ilaç ürününde nispi meydana gelme olasılıklarına göre 2A ve 2B alt sınıflarına ayrılır [1].

Sınıf 2A elementleri (Co, Ni ve V), ilaç ürününde nispeten yüksek meydana gelme olasılığına sahiptir ve bu nedenle, tüm potansiyel elemental safsızlık kaynakları ve uygulama yolları için risk değerlendirmesi gerektirir.

Sınıf 2B elementleri (Ag, Au, Ir, Os, Pd, Pt, Rh, Ru, Se ve Tl), düşük bollukları ve diğer materyallerle birlikte izole edilme potansiyeli düşük olması nedeniyle ilaç ürününde daha az meydana gelme olasılığına sahiptir. Sonuç olarak, ilaç maddelerinin, yardımcı

maddelerin veya ilaç ürününün diğer bileşenlerinin üretimi sırasında kasıtlı olarak eklenmedikçe risk değerlendirmesinin dışında tutulabilirler.

Sınıf 3: Bu sınıftaki elementler (Ba, Cr, Cu, Li, Mo, Sb ve Sn), oral (ağız) yoluyla uygulamada nispeten düşük toksisitelere sahiptir (yüksek PDE'ler, genellikle >500 µg/gün) ve kasıtlı olarak eklenmedikçe, risk değerlendirmesi sırasında dikkate alınmalarına gerek yoktur. Ancak soluma (inhalasyon) ve damar (Parenteral) yolları için elemental safsızlıkların dahil edilme potansiyeli risk değerlendirmesinde PDE 500 µg/gün'ün üzerinde olmadığı sürece dikkate alınması gerekebilir.

Diğer unsurlar (Al, B, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, W ve Zn): Düşük doğal toksisiteleri ve/veya bölgesel düzenlemelerdeki farklılıklar nedeniyle PDE'lerin tespit edilmediği bazı elemental safsızlıklar bu klavuzda ele alınmamıştır. Bu elemental safsızlıklar ilaç ürününde mevcutsa veya dahil edilmişse, belirli elementler ((örn., bozulmuş böbrek fonksiyonu için Al; riskli karaciğer fonksiyonu olan hastalar için Mn ve Zn) veya nihai ilaç ürünü için kalite hususları (örn., terapötik proteinlerde W safsızlıklarının varlığı) için geçerli olabilecek diğer kılavuzlar ve/veya bölgesel düzenlemeler ve uygulamalar tarafından ele alınmaktadır.

Çizelge 2.1. Risk değerlendirmesinde dikkat edilecek elementler

Element	Sınıf	Ürüne kasıtlı olarak eklenmişse (tüm yollar)	Ürüne kasıtlı olarak eklenmemişse		
			Ağız Yolu	Damar yolu	Soluma yolu
Cd	1	Evet	Evet	Evet	Evet
Pb	1	Evet	Evet	Evet	Evet
As	1	Evet	Evet	Evet	Evet
Hg	1	Evet	Evet	Evet	Evet
Co	2A	Evet	Evet	Evet	Evet
V	2A	Evet	Evet	Evet	Evet
Ni	2A	Evet	Evet	Evet	Evet
Tl	2B	Evet	Hayır	Hayır	Hayır
Au	2B	Evet	Hayır	Hayır	Hayır
Pd	2B	Evet	Hayır	Hayır	Hayır
Ir	2B	Evet	Hayır	Hayır	Hayır
Os	2B	Evet	Hayır	Hayır	Hayır

Rh	2B	Evet	Hayır	Hayır	Hayır
Ru	2B	Evet	Hayır	Hayır	Hayır
Se	2B	Evet	Hayır	Hayır	Hayır
Ag	2B	Evet	Hayır	Hayır	Hayır
Pt	2B	Evet	Hayır	Hayır	Hayır
Li	3	Evet	Hayır	Evet	Evet
Sb	3	Evet	Hayır	Evet	Evet
Ba	3	Evet	Hayır	Hayır	Evet
Mo	3	Evet	Hayır	Hayır	Evet
Cu	3	Evet	Hayır	Evet	Evet
Sn	3	Evet	Hayır	Hayır	Evet
Cr	3	Evet	Hayır	Hayır	Evet

### 2.3. Tez Çalışması için Elementlerin Seçimi ve Çözünürleştirme Prosedürü

Elementlerin sınıflandırılmasında üretimi yapılan eczacılık ürününe kasıtlı olarak eklenen ve eklenmeyen seçenekte bakılması ve değerlendirmesi gereken en toksik ve en riskli ilk 7 element (1 ve 2A sınıfı) için çalışma yapılması büyük önem taşımaktadır. Bu metallerin saptanması için çalışılacak ürün olarak Covid tedavisinde de insanların en çok kullandığı bir ağrı kesici olan parasetamol tablet ürünü uygun görülmüştür. 500 mg etken maddeli parasetamol tablet ürünüde ilk 7 en riskli element için GFAAS’de metod validasyonu çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Amerika farmakopesi 233 numaralı monografda bahsi geçen ve önerilen testler ICP-OES, ICP-AES ve ICP-MS cihazı ile uygulanmaktadır. İlgili çalışmamızda numune hazırlık ve diğer önerileri bu monografıtan alarak cihaz olarak GFAAS ile ilerlenmiştir. Numune olarak tablet formu ilaç seçtiğimiz için mikrodalga çözünürleştirme kullanarak numune hazırlığı gerçekleştirildi bunun için de ilgili monograf önerisiyle ilerlendi. Mikrodalga çözünürleştirme: Bu numune hazırlama prosedürü, kapalı bir kaptaki yüksek sıcaklıkta yakma ile bir derişik asit içinde deriştirilmesi gereken numuneler için tasarlanmıştır [7].

Mikrodalga çözünürleştirme işlemi ile kapalı sistemde yakma yapıldığından dolayı uçucu safsızlıkların (Pb, Hg, As gibi) kaybı en aza indirir. Derişik asit seçimi, numune matriksine bağlıdır. Derişik asitlerden herhangi birinin kullanımı uygun olabilir, ancak her biri kendine özgü güvenlik riskleri taşımaktadır. Bu nedenle, her zaman uygun güvenlik önlemleri alınmalıdır. Geniş uygulanabilirliğe sahip olan örnek bir prosedür



aşağıdaki gibidir: 0,5 g birincil numuneyi 5 mL taze hazırlanmış derişik asit içinde dehidre edilir ve çözünürleştirilir. Bu işlem çeker ocakta yapılır. Çözünürleştirmeyi hızlandırmak için, 10 mL derişik asit eklenir ve mikrodalgada çözünürleştirme tamamlana kadar yakılır (kapalı sistemde). USP 38 – NF 33 Kimyasal Testler için İkinci Ek / 233 Elemental Safsızlıklar-Prosedürler 1: Gerekirse ilave 5 mL derişik asit eklenerek tekrarlanır [8].

Agilent GFAAS cihazı için metallerin detaylı analiz parametreleri için cihazın cook-book bölümündeki detaylı metot önerileri uygulanmıştır [9]. Çalışmanın en optimum metot parametreleri için aynı zamanda aşağıdaki literatür çalışmalarından faydalanılmıştır.

#### **2.4. Literatür Araştırması**

Nessa ve arkadaşları (2016) 39 farklı tıbbi ilaç (28 tablet, 4 şurup, 6 süspansiyon ve bir sakız) asidik ortamda çözünürleştirilerek GFAAS ile Pb, Cd ve Ni analizini gerçekleştirmişler. Metallerin geri kazanımını %86,4 ile %97 arasında ve metaller için günlük ve günler arası kesinlik RSD değerini %5'den küçük bulmuşlar. Parasetamol tablet'deki metallerinin geri kazanım değerlerini Pb için %86,40-95,64, Ni için %90,04-97,00 ve Cd için 93,20-95,84 arasında bulmuşlar [10].

Jurowski ve arkadaşları (2018) anesteziğin diş jellerindeki Pb ve Cd analizini mikrodalga çözünürleştirme ile elektrotermal AAS cihazında gerçekleştirmişler. Metallerin geri kazanımını %97 ile %96,5 arasında bulmuşlar. Kolerasyon faktörü ( $R^2$ ) için sonuçları 0,998 olarak bulmuşlar [11].

Gu ve ark. (2021) USP ve ICH içerisinde bahsi geçen 24 metal için mikrodalga çözünürleştirme ve ICP-MS ile metal analizlerini gerçekleştirmişler. Tüm metot validasyon parametrelerini USP ve ICH kılavuzları gereklilikleri dahilinde bulmuşlar [12].

Pinheiro ve arkadaşları (2019) ICH kılavuzdaki 24 metal için 7,0 ve 2,0 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> kullanarak, mikrodalga çözünürleştirme yöntemiyle numune hazırlamışlar. Analizler de Os metali hariç, ICP-OES cihazında %70 ile %138 arasında geri kazanım elde etmişler, ICP-MS cihazında %72 ile %128 arasında geri kazanım elde etmişler [13].

French ve arkadaşları (2013) Ecstasy tabletlerinde bulunması muhtemel bakır, magnezyum, baryum, nikel, krom ve kurşun metallerini grafit fırın atomik absorpsiyon cihazı kullanarak analiz etmişler. Bağlı standart sapma (%RSD) değerlerinin metaller için

0,4 ile 11,2 arasında bulmuşlar. Parti bir olarak tanımladıkları ecstasy tabletlerinde Cu 4,26-2379 ppm, Mg 3,25-180 ppm, Ba 0,19-0,66 ppm, Ni 0,47-13,1 ppm, Cr 0,12-3,16 ppm, Pb 0,11-3,81 ppm aralığında; Parti iki olarak tanımladıkları ecstasy tabletlerinde ise Cu 17,05-162 ppm, Mg 3,22-8,66 ppm, Ba 3,77-6,31 ppm, Ni 0,43-9,06 ppm, Cr 0,10-1,36 ppm, Pb 0,12-4,91 ppm aralığında bulmuşlar. Ayrıca, bu elementler için LOD değerlerini Cu için 0.1682 mg/L, Mg için 0.0017 mg/L, Ba için 0.4357 mg/L, Ni için 1.5089 mg/L, Cr için 0.5068 mg/L ve Pb için 0.2029 mg/L olarak belirlenmiştir [14].

Aleluia ve arkadaşları (2017) üç farklı tedavi sınıfında kullanılan organik farmasötik formülasyonlardaki kadmiyum ve kurşunun yüksek çözünürlüklü sürekli kaynaklı grafit fırın atomik absorpsiyon spektrometresi kullanılarak ardışık belirlenmesini çalışmışlar. Sırasıyla LOD ve LOQ değerlerini Cd için 4 ve 13 ng/g, Pb için 49 ve 165 ng/g olarak bulmuşlar. Cd ve Pb için hassasiyet veya kesinlik ifadesi olan %RDS değerlerini sırasıyla %5 ve %6,2 olarak belirlemişler. Metod doğruluğu için yapılan geri kazanım çalışması %94-114 arasında olduğunu bulmuşlar [15].

Menoutis ve arkadaşları (2018) ağız yoluyla alınan ilaçlardaki (Aspirin ve Lisinipril) seçili elemental safsızlıkların tayini için ICP-AES cihazını kullanmışlar. Bütün elementler için %RSD değerini 3,5'dan düşük belirlemişler. Analizi yapılan 24 elementten osmiyum hariç % geri kazanım değerlerini %89,3 ve %109,25 arasında bulmuşlar. Ayrıca, kullanmış oldukları yöntemin, hedef değer %50-%200 aralığında doğrusal, kesin ve doğru olduğu göstermişler. Seçilen elementler için LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0,04-0,77 ug/L ve 0,4-7,7 ug/L bulmuşlar [16].

Celina ve arkadaşları (2013) tablet ilaçlarda elemental safsızlıkların tayini için ICP-OES cihazı ve numune hazırlığında mikrodalga çözünürleştirme yöntemini kullanmışlar. Analizlerde Os metali hariç, geri kazanımları %85,3-%103,8 ve %RSD %1,3-%3,2 arasında bulmuşlar. Elementler için LOD ve LOQ değerleri USP limitleri içerisinde bulmuşlar [17].

Fernanda ve arkadaşları (2020) omeprazole bitmiş ürünlerde elemental safsızlıkların tayini için ICP-MS cihazı ve numune hazırlığında mikrodalga çözünürleştirme yöntemini kullanmışlar. Analizlerde geri kazanımları %70-%127 arasında bulmuşlar [18].

Tomas ve arkadaşları (2019) USP ve ICH-Q3D klavuzlarına göre elementel impürite analizlerini LA-ICP-MS ve ICP-MS cihazı ile direk çözme ve mikrodalga çözünürleştirme yöntemi ile hazırlanarak analizleri gerçekleştirmişler. Analizlerde geri

kazanımları %82–%115 arasında bulmuşlar. Kalibrasyon grafiği eğrilerinin tümünde Kolerasyon faktörü ( $R^2$ ) en az 0.99 bulmuşlar [19].

Holly ve arkadaşları (2013) ekstazi tabletlerinde GF-AAS cihazı ile Cu, Mg, Ba, Ni, Cr ve Pb elementlerini analiz etmişler. Analizlerde ortalama geri kazanım %101 ve %RSD sonuçlarını %7,6 bulmuşlar. Standartlar için %RSD sonuçlarını %12 bulmuşlar [20].

Maithani ve arkadaşları (2019) ulusal ve uluslararası tüm elemental impürite analizleriyle ilgili kılavuzları toplayarak kullanılabilircek tüm numune hazırlık biçimlerini ve analitik cihazları değerlendirecek bir çalışma gerçekleştirmişler [21].





### 3. MATERYAL VE DENEYSEL YÖNTEM

Metot parametreleri ve validasyon protokolü, ICH Q2 (R1) (Analitik Prosedürlerin Doğrulanması: Metin ve Metodoloji) ve ICH Q3D (Elemental Safsızlıklar için Kılavuz) uyarınca tasarlanmıştır. Kullanılan validasyon protokolü Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Validasyon Protokolü

Validasyon Parametreleri	Uygulama	Kabul Limitleri
Seçicilik	Tüm metaller için uygulanır.	Her metal ilgili dalga boyunda absorbands vermelidir.
Doğrusallık	Doğrusallık çalışması 3 derişim ile yapılır.	Her metal için Kolerasyon faktörü ( $R^2$ ) en az 0.99 olmalıdır.
Kesinlik ve Doğruluk	Doğruluk ve kesinlik aşağıdaki çözeltiler ile yapılacaktır: - Parasetamol 500 mg Tablet bitmiş ürün numunesi. Parasetamol 500 mg Tablet bitmiş ürün numunesi içersine tüm metallerden %50 ve %100 (6 tekrarlı) derişimde ekleme yapılır.	Doğruluk: %100 ekleme çözeltisinde geri kazanım %80 ile %120 arasında olmalıdır. Kesinlik: %100 ekleme çözeltisi (6 tekrarlı) için %RSD en fazla 15 olmalıdır.
Miktar Hesaplama Sınırı (LOQ)	Niceleme sınırı (LOQ), Doğrusallık etüdünde kullanılan çözümlere karşılık gelen Doğrusallık etüdü kullanılarak teorik olarak belirlenir. (%25) Hazırlık: 1 çözelti LOQ derişimde 6 enjeksiyon yapılır.	LOQ konsantrasyonunda absorbands elde edilmelidir. Altı tekrarlı enjeksiyonun RSD'si en fazla 15 olmalıdır.

### 3.1. Reaktif ve Çözeltiler

HNO<sub>3</sub>, HCl, ve standart metal çözeltileri Merck firmasından temin edilmiştir. Cd, Pb, As, Hg, Co, V ve Ni elementleri 1000 mg/L stok ana standart çözeltilerdir.

Çözücü ve kör olarak 1M HNO<sub>3</sub> kullanılmıştır (“ağırlıkça 96.6 g Nitrik asit R'yi saf su ile 1000.0 mL'ye seyreltilerek” Avrupa farmakopesine göre “Nitrik asit R: Nitrik asit. HNO<sub>3</sub>. (Mr 63.0). Cas No. [7697-37-2], içeriğinin %63,0 m/m ile %70,0 m/m arası”).

### 3.2. Cihaz ve Cihaz Parametreleri

Parasetamol tablet ürününde ilk 7 en riskli element için Agilent marka 240Z AA, Zeeman GFAAS cihazı kullanılmış ve cihaz parametreleri Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. GFAAS'de analizi yapılan elementlerin cihaz parametreleri

Cihaz Parametreleri	Cd	Pb (Ultra Lamp)	As	Hg	Co	V (Ultra Lamp)	Ni
Lamba akımı, mA	4,0	10,0	10,0	4,0	7,0	20,0	70
Enjeksiyon hacmi, µL	45	20	2	10	8	20	2
Dalga boyu, nm	326,1	283,3	193,7	253,7	403,4	306,6	351,5
Slit aralığı, nm	0,5	0,5	0,5R	0,5	0,5	0,5	0,2

### 3.3. Standart ve Referans Çözeltilerin Hazırlanması

Çalışmada referans stok çözeltisi olarak Merck Millipore 1000 µg/mL (ppm) metal (Cd, Pb, As, Hg, Co, V ve Ni) standart çözeltileri kullanılmıştır.

“Referans Stok Çözeltisi-1” hazırlanırken 1000 ppm’lik çözeltilerden 0,1 mL Cd, 0,1 mL, 0,3 mL As ve 0,6 mL Hg alınarak 100 mL’lik bir balon jøjeye aktarılmış, çözücü ile hacme kadar seyreltilmiş ve karıştırılmıştır. Böylece 1 µg/mL Cd, 1 µg/mL Pb, 3 µg/mL As ve 6 µg/mL Hg çözeltisi hazırlanmıştır.

“Referans Stok Çözeltisi-2” hazırlanırken yine 1000 ppm’lik ana stok çözeltilerden 1 mL Co, 2 mL V ve 4 mL Ni çözeltisi 100 mL’lik balon jøjede hazırlanmıştır. 10 µg/mL Co, 20 µg/mL V ve 40 µg/mL Ni çözeltisi kullanıma hazır hale getirilmiştir.

“Referans Çözeltisi” ise 1 mL “Referans Stok Çözeltisi-1” ve 1 mL “Referans Stok Çözeltisi-2”den alınarak 20 mL 0,05 µg/mL Cd, 0,05 µg/mL Pb, 0,15 µg/mL As, 0,3 µg/mL Hg, 0,5 µg/mL Co, 1,0 µg/mL V ve 2,0 µg/mL Ni çözeltisi seyreltik olarak hazırlanmış ve vorteks ile karıştırılmıştır.

“Test Çözeltisi” için 1.0 g parasetamol tablet numunesi analitik hassas terazide doğru bir şekilde tartılmıştır. Numunelere derişik 5 mL HNO<sub>3</sub> ve 1 mL HCl eklenmiş, 75 mL’lik mikrodalga kabı içinde mikrodalga yakma sisteminde çözünürleştirilmiştir. Mikrodalga yakma koşulu Çizelge 3.4’te verilmiştir. Mikrodalga yakmadan sonra numuneye 1 mL derişik HCl ilave edilmiş ve daha sonra saf su ile 10 mL son hacme seyreltilmiştir. Numuneler iki tekrarlı olarak hazırlanmıştır.

Çizelge 3.3. Mikrodalga çözünürleştirme koşulu

Rampa Süresi	Bekleme Süresi	Hedef Sıcaklık	Soğuma Süresi	Toplam Yakma Süresi
10 dakika	6 dakika	250 °C	4 dakika	20 dakika

### 3.4. Çalışma Prosedürü

- Öncelikle cihaza kör enjekte edilmiştir.
- 3 tekrarlı Referans Çözeltisi %50 olarak enjekte edilmiştir.
- 3 tekrarlı Referans Çözeltisi %100 olarak enjekte edilmiştir.
- 3 tekrarlı Referans Çözeltisi %150 olarak enjekte edilmiştir.
- Test Çözeltisi birer kez enjekte edilmiştir.

Elde edilen veriler kaydedilip incelenmiştir.

Sistem uygunluk koşulları incelenirken referans çözeltilerin relatif standart sapması RSD (%) %15,0’dan küçük ve korelasyon eğrisi R<sup>2</sup> değeri ise minimum 0.99 olmalıdır. Çalışma prosedüründe ICH Q2’ye göre çizilmiş olan kalibrasyon eğrisi denklemleri kullanılarak ppb cinsinden parasetamol numunesindeki analizi yapılan elementlerin (ICH Q3D’ye göre seçilen) miktarları hesaplanmıştır.





#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmamızda, 500 mg parasetamol tablet için 1. Sınıf As, Cd, Hg, Pb, ve 2A sınıfı Co, Ni, V elementlerinin GFAAS’de tayini için metot validasyon parametreleri hazırlanarak metod validasyonu yapılmıştır. Validasyon çalışmalarına ait sonuçlar Çizelge 4.1-4.7 ve Şekil 4.1-4.14’te verilmiştir.

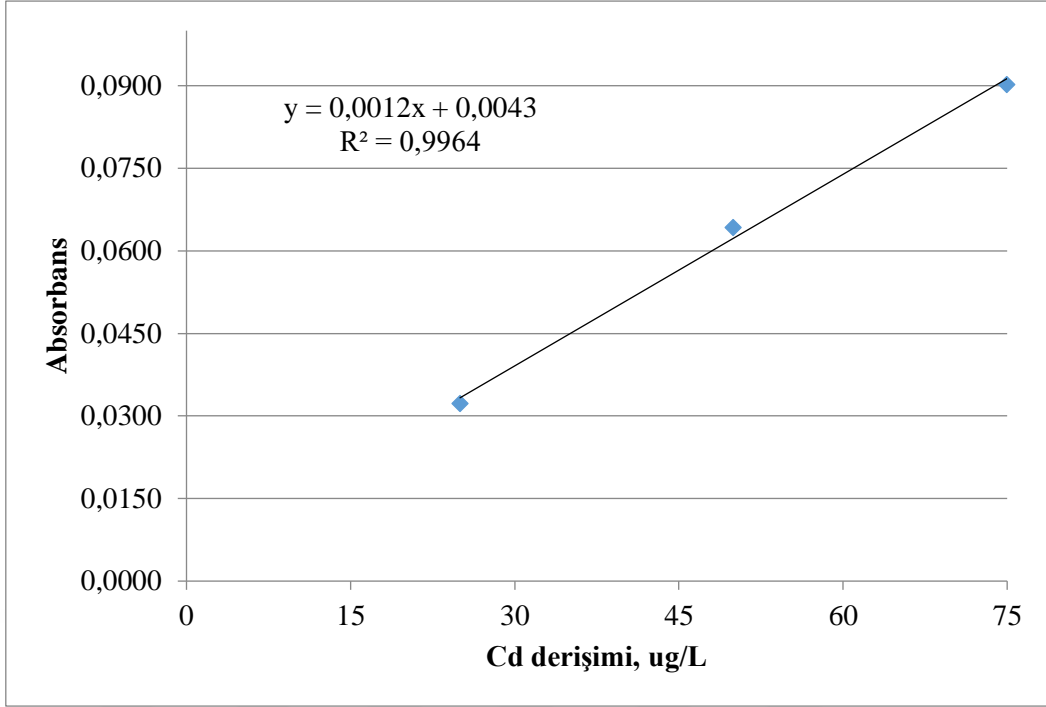
##### 4.1. Cd Elementi Validasyon Çalışması

Cd metali için çalışma sonuçları aşağıda verilmiştir.

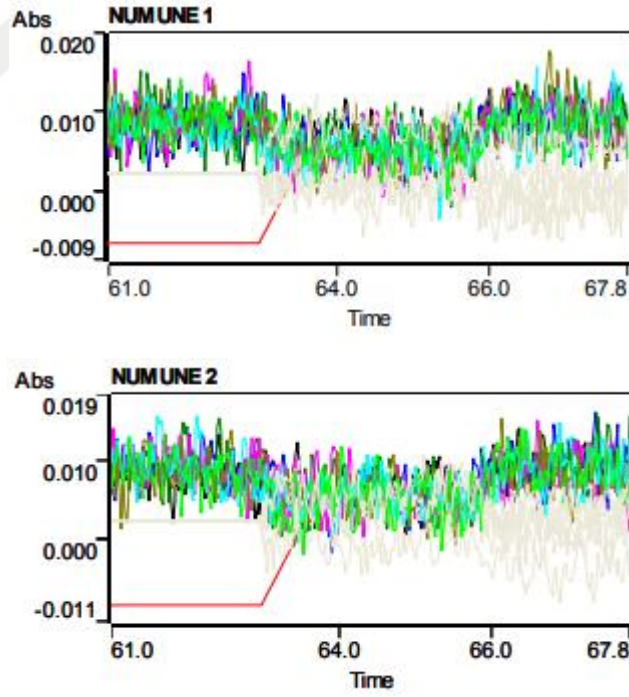
Çizelge 4.1. Cd metali validasyon sonuç çizelgesi (n=6)

Numune	Ortalama	Absorbans	Derişim (ppb)	Geri Kazanım
	Absorbans	%RSD		(%)
Referans Çözeltisi %50	0,0323	9,8	25	-
Referans Çözeltisi %100	0,0643	4,7	50	-
Referans Çözeltisi %150	0,0903	4,9	75	-
Test Çözeltisi-1	0,0124	3,8	6,8	-
Test Çözeltisi-2	0,0124	1,7	6,7	-
Kesinlik %50	0,0428	1,9	21,8	87,0
Kesinlik %100	0,0697	9,7	44,2	88,4
LOQ	0,0226	5,8	15,2*	-

\*Kalibrasyon eğrisinden hesaplanan derişim değeri.



şekil 4.1. Cd'nin kalibrasyon grafiği



şekil 4.2. Cd metali "Numune 1 ve 2" absorbans zaman grafiği

## 4.2. Pb Elementi Validasyon Çalışması

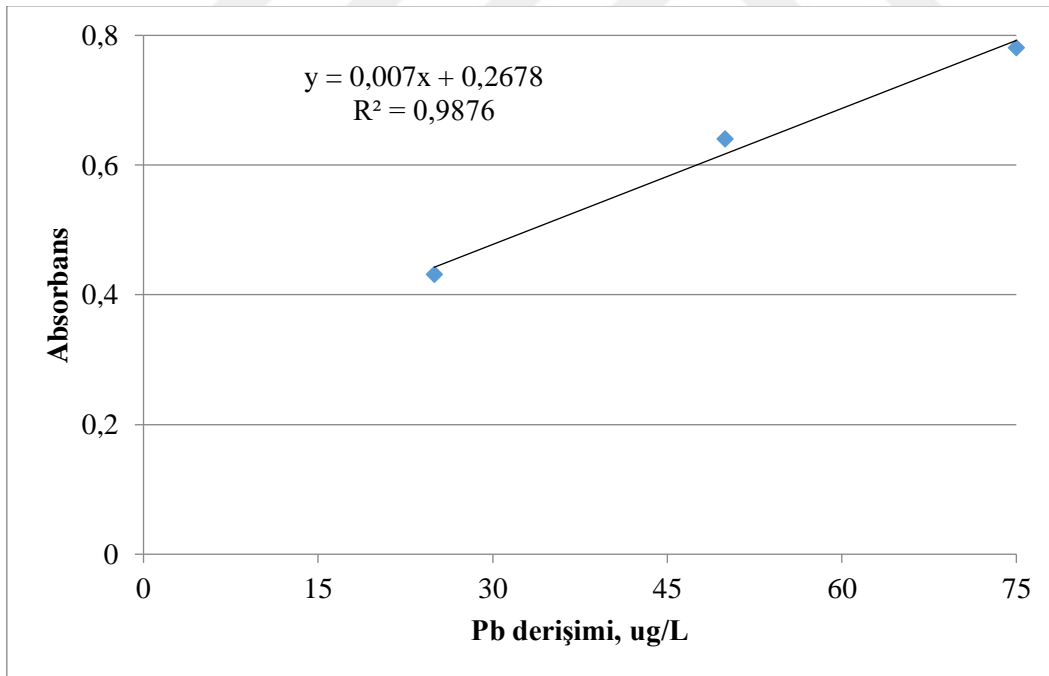
Pb metali için çalışma sonuçları aşağıda verilmiştir.

Çizelge 4.2. Pb metali validasyon sonuç çizelgesi (n=6)

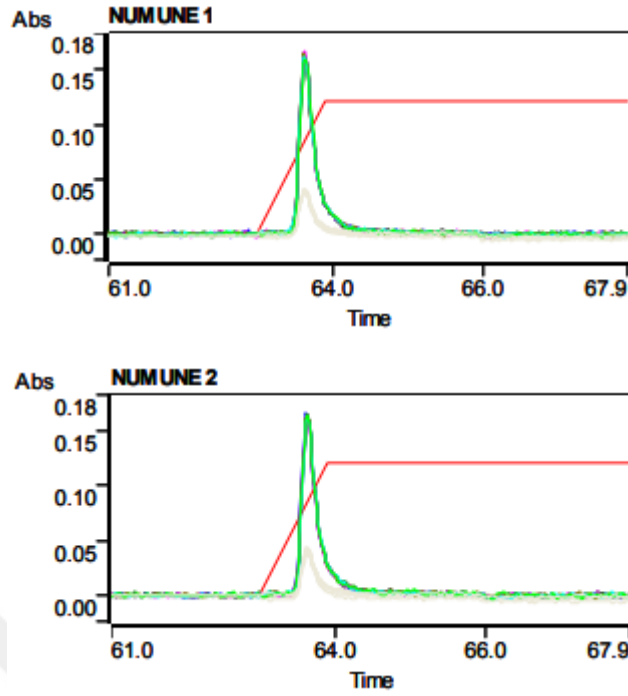
Numune	Ortalama Absorbans	Absorbans %RSD	Konsantrasyon (ppb)	Geri Kazanım (%)
Referans Çözeltisi %50	0,4313	0,4	25	-
Referans Çözeltisi %100	0,6400	0,7	50	-
Referans Çözeltisi %150	0,7809	0,2	75	-
Test Çözeltisi-1	-0,0041	12,4	TE*	-
Test Çözeltisi-2	-0,0015	7,4	TE*	-
Kesinlik %50	0,4399	0,3	25	100,0
Kesinlik %100	0,6441	0,5	54,2	108,3
LOQ	0,2805	0,6	1,8**	-

\*TE: Tespit edilmedi.

\*\*Kalibrasyon eğrisinden hesaplanan derişim değeri.



Şekil 4.3. Pb'nin kalibrasyon grafiği



Şekil 4.4. Pb metali “Numune 1 ve 2” absorbands zaman grafiği

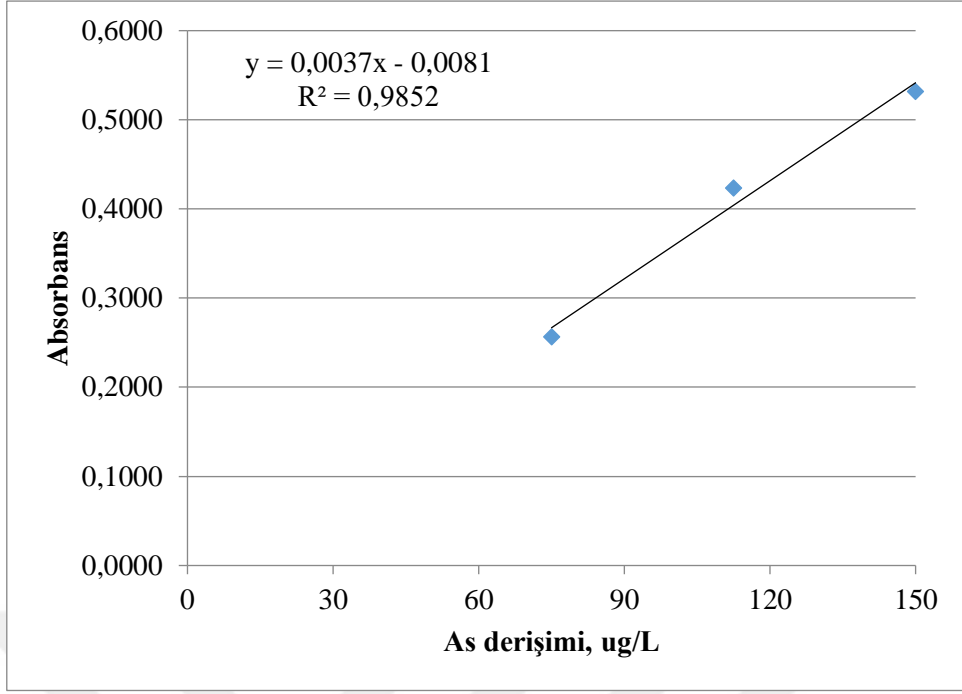
### 4.3. As Elementi Validasyon Çalışması

As metali için çalışma sonuçları aşağıda verilmiştir.

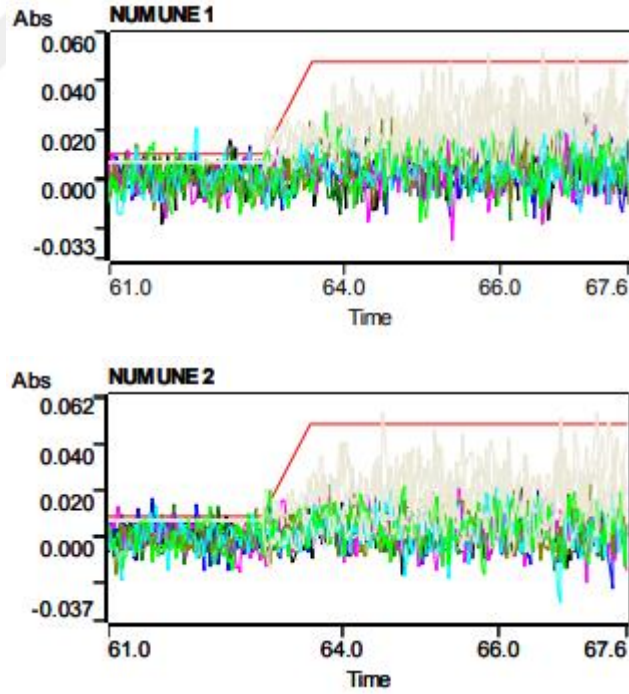
Çizelge 4.3. As metali validasyon sonuç çizelgesi (n=6)

Numune	Ortalama Absorbans	Absorbans %RSD	Konsantrasyon (ppb)	Geri Kazanım (%)
Referans Çözeltilisi %50	0,2570	7,5	75	-
Referans Çözeltilisi %75	0,4236	2,8	112,5	-
Referans Çözeltilisi %100	0,5318	4,7	150	-
Test Çözeltilisi-1	0,0214	15,0	8,0	-
Test Çözeltilisi-2	0,0195	4,3	7,5	-
Kesinlik %50	0,3272	13,2	85,1	113,1
Kesinlik %100	0,5232	2,2	138,1	92,0
LOQ	0,1705	7,2	48,3*	-

\*Kalibrasyon eğrisinden hesaplanan derişim değeri.



Şekil 4.5. As'nin kalibrasyon grafiği



Şekil 4.6. As metali "Numune 1 ve 2" absorbans zaman grafiği

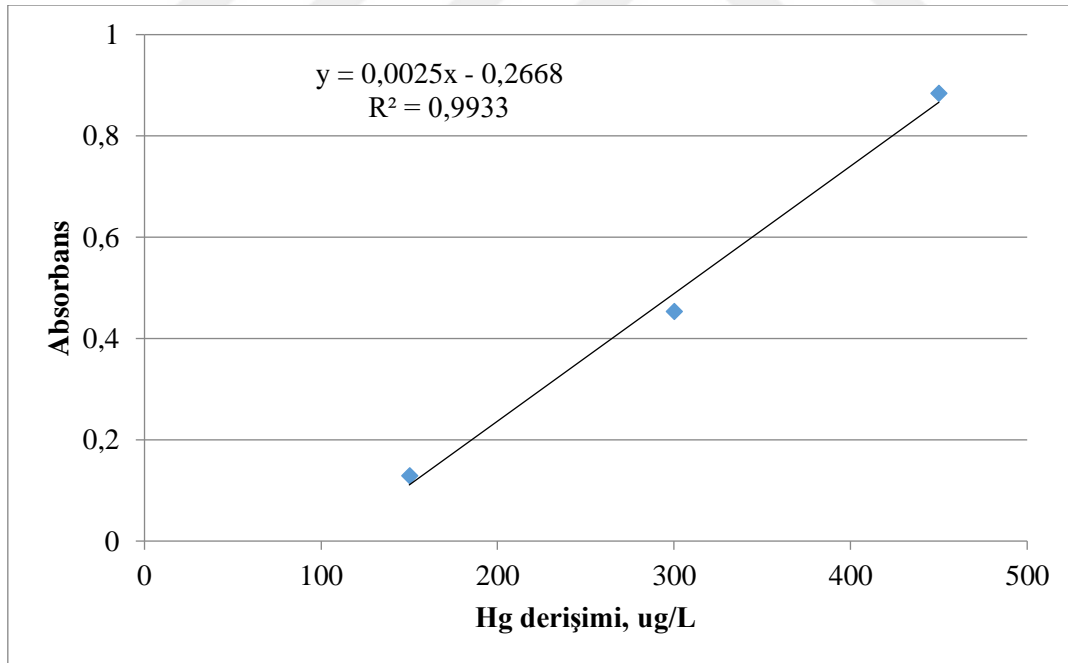
#### 4.4. Hg Elementi Validasyon Çalışması

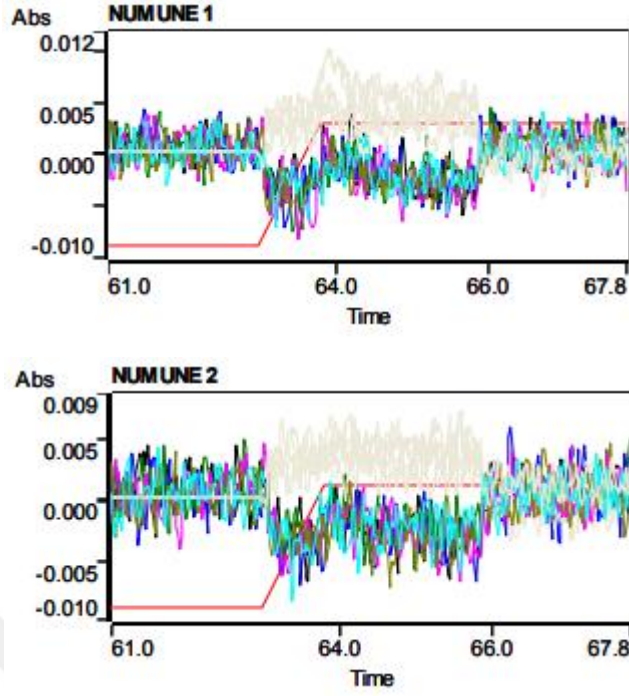
Hg metali için çalışma sonuçları aşağıda verilmiştir.

Çizelge 4.4. Hg metali validasyon sonuç çizelgesi (n=6)

Numune	Ortalama Absorbans	Absorbans %RSD	Konsantrasyon (ppb)	Geri Kazanım (%)
Referans Çözeltisi %50	0,1289	5,1	150	-
Referans Çözeltisi %100	0,4529	11,3	300	-
Referans Çözeltisi %150	0,8844	2,1	450	-
Test Çözeltisi-1	0,0021	9,5	107,6	-
Test Çözeltisi-2	0,0015	2,7	107,3	-
Kesinlik %50	0,1564	2,3	168,6	112,4
Kesinlik %100	0,4931	5,1	303,2	101,1
LOQ	0,0320	8,0	119,5*	-

\*Kalibrasyon eğrisinden hesaplanan derişim değeri.





Şekil 4.8. Hg metali “Numune 1 ve 2” absorbans zaman grafiği

#### 4.5. Co Elementi Validasyon Çalışması

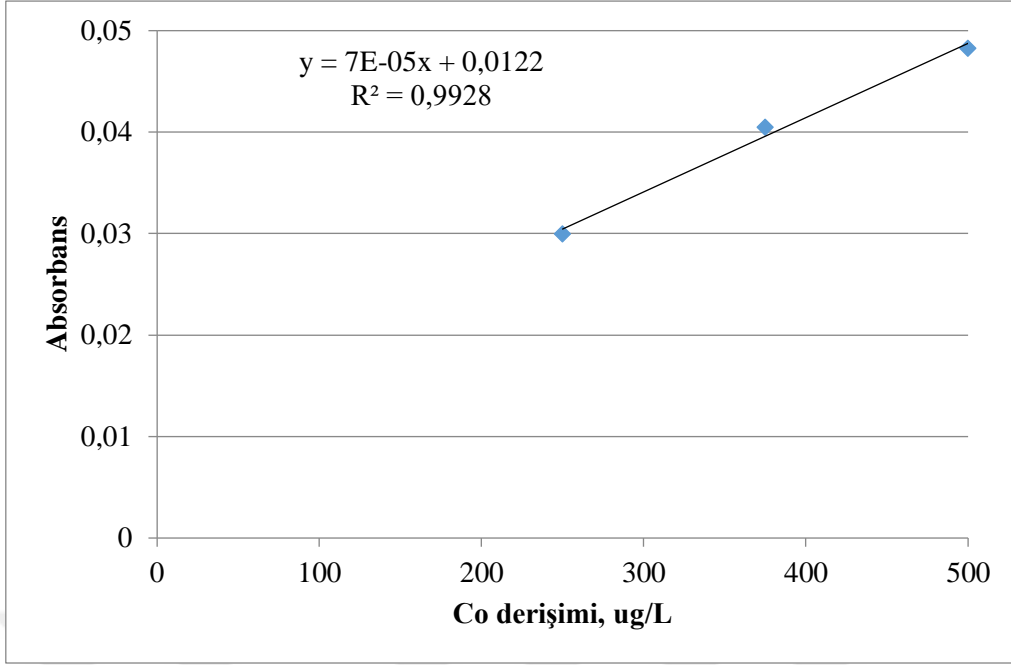
Co metali için çalışma sonuçları aşağıda verilmiştir.

Çizelge 4.5. Co metali validasyon sonuç çizelgesi (n=6)

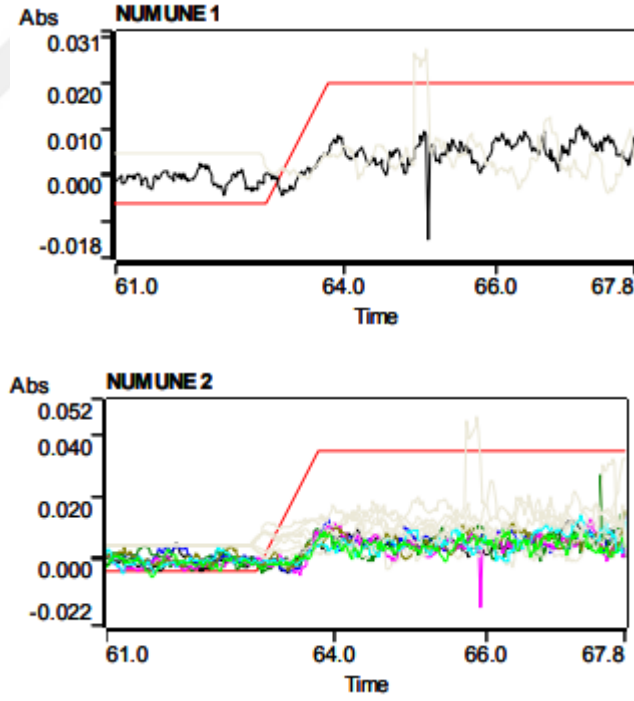
Numune	Ortalama Absorbans	Absorbans %RSD	Konsantrasyon (ppb)	Geri Kazanım (%)
Referans Çözeltilisi %50	0,0300	1,3	250	-
Referans Çözeltilisi %75	0,0405	3,4	375	-
Referans Çözeltilisi %100	0,0483	0,5	500	-
Test Çözeltilisi-1	0,0009	8,1	TE*	-
Test Çözeltilisi-2	0,0009	5,7	TE*	-
Kesinlik %50	0,0317	1,6	265,2	106,1
Kesinlik %100	0,0478	5,4	495,0	99,0
LOQ	0,0173	6,0	59,2**	-

\*TE: Tespit edilmedi.

\*\*Kalibrasyon eğrisinden hesaplanan derişim değeri.



şekil 4.9. Co'nun kalibrasyon grafiği



şekil 4.10. Co metali "Numune 1 ve 2" absorbans zaman grafiği



#### 4.6. V Elementi Validasyon Çalışması

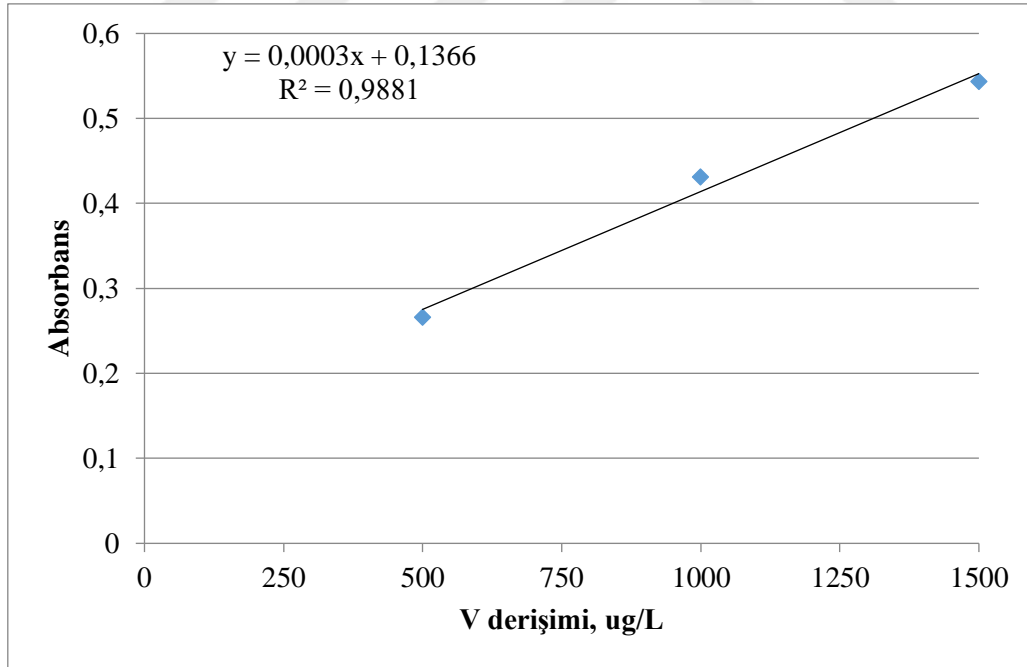
V metali için çalışma sonuçları aşağıda verilmiştir.

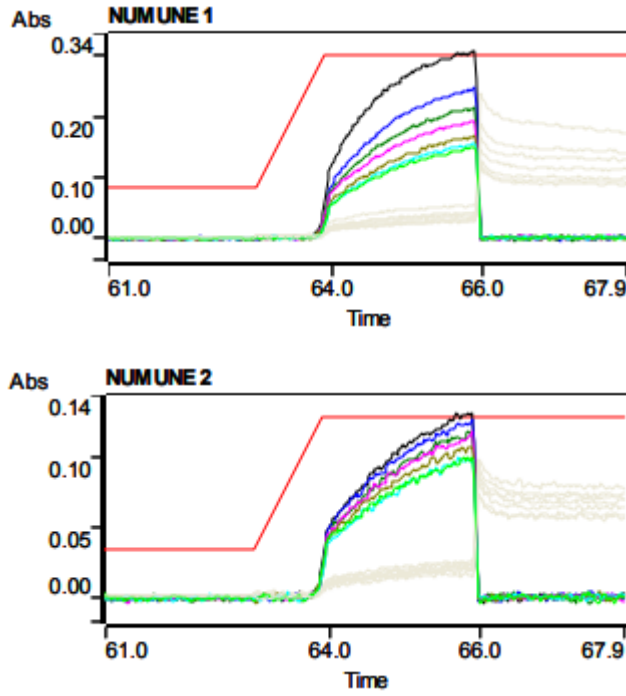
Çizelge 4.6. V metali validasyon sonuç çizelgesi (n=6)

Numune	Ortalama Absorbans	Absorbans %RSD	Konsantrasyon (ppb)	Geri Kazanım (%)
Referans Çözeltisi %50	0,2665	2,7	500	-
Referans Çözeltisi %100	0,4316	2,0	1000	-
Referans Çözeltisi %150	0,5439	1,0	1500	-
Test Çözeltisi-1	0,0503	9,6	TE*	-
Test Çözeltisi-2	0,0490	8,5	TE*	-
Kesinlik %50	0,2598	2,8	245,1	49,0
Kesinlik %100	0,4287	2,6	808,0	80,8
LOQ	0,1423	2,4	18,9**	-

\*TE: Tespit edilmedi.

\*\*Kalibrasyon eğrisinden hesaplanan derişim değeri.





Şekil 4.12. V metali “Numune 1 ve 2” absorbands zaman grafiği

#### 4.7. Ni Elementi Validasyon Çalışması

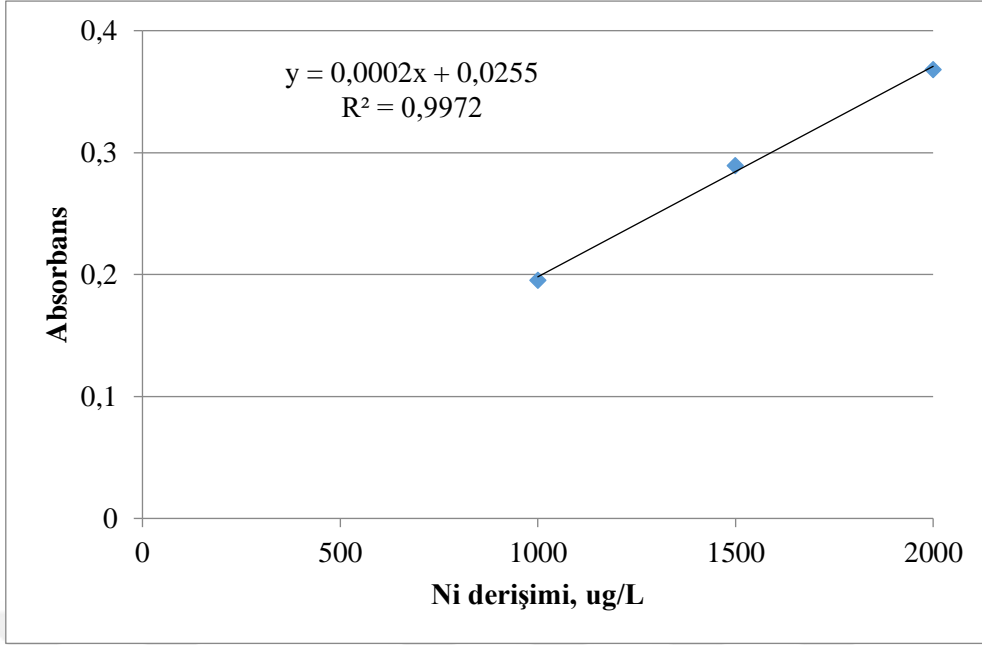
Ni metali için çalışma sonuçları aşağıda verilmiştir.

Çizelge 4.7. Ni metali validasyon sonuç çizelgesi (n=6)

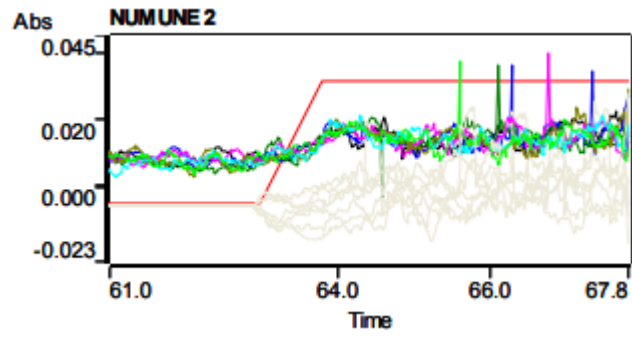
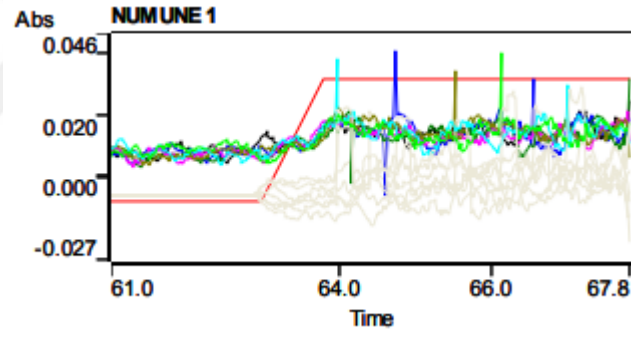
Numune	Ortalama Absorbans	Absorbans %RSD	Konsantrasyon (ppb)	Geri Kazanım (%)
Referans Çözeltisi %50	0,1955	2,6	1000	-
Referans Çözeltisi %100	0,2897	1,0	1500	-
Referans Çözeltisi %150	0,3681	2,6	2000	-
Test Çözeltisi-1	0,0205	7,9	TE*	-
Test Çözeltisi-2	0,0196	4,7	TE*	-
Kesinlik %50	0,2103	0,2	823,8	82,4
Kesinlik %100	0,3056	0,9	1300,2	86,7
LOQ	0,0948	2,8	346,3**	-

\*TE: Tespit edilmedi.

\*\*Kalibrasyon eğrisinden hesaplanan derişim değeri.



şekil 4.13. Ni'nin kalibrasyon grafiği



şekil 4.14. Ni metali "Numune 1 ve 2" absorbans zaman grafiği



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bitmiş ürün ilaç analizlerinde GMP risk yönetimine dayalı önemli yaklaşımlar ve ICH'e göre elemental impürite analizlerindeki sınır değerlerin tanımlanması insan sağlığı/halk sağlığı açısından oldukça önemlidir. Toksik olan ve ICH'ye göre Sınıf 1 olarak belirtilen As, Cd, Hg, Pb elementlerinin yanı sıra Sınıf 2'de yer alan 2A olarak belirtilen Co, N ve V elementlerinin parasetamol tabletteki impürite analizleri yapılmıştır. Bu impürite kaynakları genellikle ilaç üretiminde kullanılan malzemeler ve yardımcı maddelerden kaynaklanmaktadır. Bu nedenlerden dolayı elemental impürite kaynakları için risk değerlendirmesinin yapılmasını gerekli kılmaktadır.

ICH yönergesine göre bitmiş ürün ilaç analizlerinde elemental impürite analizleri için geliştirilmiş pahalı bir cihaz olan ICP-OES'e alternatif olarak daha ulaşılabilir ve maliyeti düşük GFAAS cihazı ile As, Cd, Hg, Pb, Co, Ni ve V elementlerin analizlerinin gerçekleştirilebileceği saptanmıştır. Önerilen GFAAS cihazında oluşturulan yöntemin, doğrusallık, kesinlik, doğruluk ve özgüllük üzerinden değerlendirilmiş ve parasetamol ilaç maddesinin kalite kontrolü için uygun ve etkili olduğu kanıtlanmıştır.

Bu çalışmada, %65 HNO<sub>3</sub> ve %37 HCl (5:1, v/v) karışımı kullanılarak mikrodalga çözünürleştirme ile numune hazırlama gerçekleştirilmiştir. Validasyon doğrulama sonuçları, düşük limitlerde (LOQ: her metal için limitlerin %25'i) iyi performans göstermiş ve altı tekrarlı LOQ (%RSD<8.0 %) ölçümü ile elde edilen düşük yüzde bağıl standart sapma göstermiştir. Doğrusallık çalışması için üç standart konsantrasyon aralığı (%50, %100 ve %150) için incelenmiş ve doğrusallık korelasyon katsayısı sonuçları en az 0,99 olarak elde edilmiştir. Bu da bize absorbans ve analitlerin derişimi arasında doğrusallık olduğunu kanıtlamaktadır. Yöntemin doğruluğunu kanıtlamak için ise iki gerçek numuneye %50 ve %100 çalışma aralığına giren oranında impürite analizi için seçtiğimiz elementler eklenmiş ve test yöntemimize göre GFAAS'de analizi yapılmıştır. Gerçek numunelerin geri kazanım sonuçları %80 ile %120 arasında elde edilmiştir.

Bu nedenlerle, mevcut çalışma ile parasetamol ilacında As, Cd, Hg, Pb, Co, Ni ve V için duyarlılık, yani algılamamanın alt sınırı nedeniyle, GFAAS'nin As, Cd, Hg, Pb, Co, Ni ve

V'un belirlenmesi için diğer geleneksel analitik yöntemlere göre avantajlara sahip olduğunu göstermektedir ve yöntem kolayca ilaç safsızlık analizlerinde rutin analizler için kullanılabilir.



## KAYNAKLAR

- [1] **ICH Q3D (R1)** (2019). Guideline for elemental impurities, *International Conference on Harmonisation*.
- [2] **The United States Pharmacopeia Convention** (2015). The United States pharmacopeia, chapter 233: elemental impurities – procedures, 40, 1–3.
- [3] **Patrícia Mattiazia, Denise Bohrera, Emilene Becker, Carine Viana, Paulo C. Nascimento, Leandro M. Carvalho** (2019). High-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry for screening elemental impurities in drugs to adhere to the new international guidelines, *Talanta*, 197, 20–27.
- [4] **ICH Q2 (R1)** (2005). Validation of analytical procedures: text and methodology, *International Conference on Harmonisation*.
- [5] **ICH Q9** (2005). Quality Risk Management, *International Conference on Harmonisation*.
- [6] **Haxel GB, Hedrick JB, Orris GJ.** (2005). Rare earth elements-critical resources for high technology. *US Geological Survey*, 087-02.
- [7] **Holly E. French, Michael J. Went \*, Stuart J. Gibson** (2013). Graphite furnace atomic absorption elemental analysis of ecstasy tablets, *Forensic Science International*, 231, 88–91.
- [8] **Vita Rudovica, Arturs Viksna, Andris Actins** (2014). Application of LA-ICP-MS as a rapid tool for analysis of elemental impurities in active pharmaceutical ingredients, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 91, 119–122.
- [9] **Agilent Technologies, Inc.** (2012). Analytical Methods for Graphite Tube Atomizers User Guide, Eighth edition.
- [10] **Nessa F., Khan S.A., Abu Shawish Y.I.** (2016). Lead, Cadmium and Nickel Contents of Some Medicinal Agents, *Indian J Pharm Sci.*, 2016;78(1), 111–119.
- [11] **Jurowski, K., Krośniak, M., Folta, M., Cole, M., & Piekoszewski, W.** (2019). Toxicological analysis of Pb and Cd by ET AAS in local anaesthetics for teething (teething gels) based on herbs available in Polish pharmacies, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 52, 18–21.
- [12] **X. Gu, S. Zhu, L. Yan, L. Cheng, P. Zhu and J. Zheng** (2021). Development of a sample preparation method for accurate analysis of 24 elemental impurities in oral drug products by ICP-MS according to USP/ICH guidelines, *J. Anal. At. Spectrom.*, 36, 512–517.
- [13] **Fernanda C. Pinheiro, Ariane I. Barros, Joaquim A. Nobrega** (2019). Microwave-assisted sample preparation of medicines for determination of elemental

impurities in compliance with United States Pharmacopeia: How simple can it be? *Analytica Chimica Acta*, 1065, 1–11.

- [14] **French, H. E., Went, M. J., & Gibson, S. J.** (2013). Graphite furnace atomic absorption elemental analysis of ecstasy tablets. *Forensic Science International*, 231(1-3), 88–91.
- [15] **Aleluia, A. C. M., de Santana, F. A., Brandao, G. C., & Ferreira, S. L. C.** (2017). Sequential determination of cadmium and lead in organic pharmaceutical formulations using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Microchemical Journal*, 130, 157–161.
- [16] **Menoutis, J., Parisi, A., & Verma, N.** (2018). Study of the use of axial viewed inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with ultrasonic nebulization for the determination of select elemental impurities in oral drug products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 152, 12–16.
- [17] **Celina Støvinga, Henrik Jensena, Bente Gammelgaardb, Stefan Stürup,** (2013). Development and validation of an ICP-OES method for quantitation of elemental impurities in tablets according to coming US pharmacopeia chapters. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 84, 209–214.
- [18] **Fernanda C. Pinheiro, Ariane I. Barros, Joaquim A. Nobrega,** (2020). Elemental impurities analysis in name-brand and generic omeprazole drug samples. *Heliyon*, 6, e03359.
- [19] **Tomas Pluhacek, Michael Rucka, Vítězslav Maier,** (2019). A direct LA-ICP-MS screening of elemental impurities in pharmaceutical products in compliance with USP and ICH-Q3D. *Analytica Chimica Acta*, 1078, 1–7.
- [20] **Holly E. French, Michael J. Went, Stuart J. Gibson,** (2013). Graphite furnace atomic absorption elemental analysis of ecstasy tablets. *Forensic Science International*. 231, 88–91.
- [21] **M. Maithani, R. Raturi, P. Sharma, V. Gupta, P. Bansal,** (2019). Elemental impurities in pharmaceutical products adding fuel to the fire. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 108, 104435.