

Hohe Anforderungen an die Analytik

RESTLÖSEMittel IN PHARMAZEUTISCHEN PRODUKTEN Die Anforderungen an die Prüfung von Restlösemitteln nach Ph. Eur. und USP sind gestiegen. Die UFAG Laboratorien haben die Analyseverfahren optimiert und bieten neben dem Screening auch Consulting zu den entsprechenden Pharmakopöe-Vorgaben an.

Pharmazeutische Fertigprodukte und Rohstoffe enthalten oft Rückstände an Lösungsmitteln. Diese stammen häufig aus der Fabrikation und wurden dort bei der Synthese oder der anschliessenden Reinigung des Produkts eingesetzt. Im weiteren Herstellungsprozess können diese dann oft nicht vollständig entfernt werden. Fertigprodukte wie Tabletten enthalten zudem gerne Lösungsmittel aus dem Lack oder der Beschriftung. Das Thema Restlösemittel behandeln die europäische und die amerikanische Pharmakopöe (Ph.Eur.; USP) jeweils im Kapitel Residual Solvents (Ph.Eur. Kapitel 5.4. respektive USP Kapitel 467.). Beide Kapitel sind weitgehend harmonisiert und gelten prinzipiell für alle durch die USP oder Ph.Eur. geregelten Substanzen. Seit dem 1.7.2008 ist es nicht mehr ausreichend, nur dann auf Restlösemittel zu prüfen, wenn dies in einer Monografie vorgegeben ist. Sollte dies jedoch der Fall sein, so gilt, wie bei allgemeinen Kapiteln üblich, die Vorgabe der Monografie.

Drei Toxizitätsklassen

Gemäss den Pharmakopöen sollen die Konzentrationen der Lösungsmittel vorgegebene Grenzwerte nicht überschreiten. Hierbei ist zu beachten, dass die verschiedenen Stoffe je nach ihrer Toxizität in drei unterschiedliche Klassen eingeteilt sind; diese Listen sind aber noch nicht definitiv abgeschlossen. Dies bedeutet zum einen,

dass grundsätzlich auf alle Lösungsmittel zu prüfen ist, welche möglicherweise in einer Substanz oder einem Produkt enthalten sein können. Zum anderen ist es nicht zwingend erforderlich, auf ein Lösungsmittel zu prüfen, dessen Anwesenheit unter Berücksichtigung des gesamten Herstellungsprozesses inklusive der verwendeten Chemikalien und Hilfsstoffe ausgeschlossen werden kann. Wissenswert ist zudem, dass es sich bei Restlösemitteln im Sinne der Pharmakopöen nicht um Lösungsmittel handelt, die einem Produkt als Hilfsstoff zugesetzt wurden, sofern dieser Zusatz gerechtfertigt ist. Die genannten Grenzwerte und die Einteilung der Lösungsmittel in Klassen sind grundsätzlich anhand der Toxizitätsdaten des Lösungsmittels und der maximalen Tagesdosis eines Produkts festgelegt worden. Die Konzentration eines Lösungsmittels in einem Wirkstoff oder auch einem Hilfsstoff kann also durchaus über dem angegebenen Limit liegen, wenn das fertige Produkt den geltenden Grenzwert einhält. Da dies rechnerisch oder durch Analysen zu belegen ist, ist es das Ziel des Gesetzgebers, die Verwendung von möglichst unbedenklichen Lösungsmitteln in möglichst geringen Mengen zu bevorzugen.

Als Extrembeispiel dient der Vergleich des carcinogenen Benzols (Klasse 1, Limit: 2 ppm, siehe Tabelle 1) mit dem weniger giftigen Aceton (Klasse 3, Limit: 5000 ppm, siehe Tabelle 3). Sind in einem Produkt Lösungsmittel der Klasse 3 vorhanden, genügt es, wenn der Trockenverlust (loss on drying) unter 0,5% (5000 ppm) liegt, um die Anforderungen zu erfüllen. Durch diesen vergleichsweise einfach zu bestimmenden Summenparameter kann nicht nur Aceton, sondern alle in Klasse 3 gelisteten Lösungsmittel abgedeckt werden. Dagegen sollte möglichst auf Klasse-1-Lösungsmittel wie z.B. Benzol verzichtet werden. Dementsprechend schreiben die Pharmakopöen die Identifizierung und Quantifizierung von Lösungsmitteln der Klasse 1 vor, sobald diese in einem Produkt enthalten sein können.

Diese Lösungsmittel können, wie auch Klasse-2-Lösungsmittel, nicht durch Summenparameter abgedeckt werden. Das vorgegebene Limit von 2 ppm stellt zudem deutlich höhere Anforderungen an die analytische Bestimmungsmethode.

Methode der Wahl: Headspace-Gaschromatographie (HS-GC)

Zur Bestimmung von Restlösungsmitteln in pharmazeutischen Produkten ist die Headspace-Gaschromatographie (HS-GC)

Tabelle 1

Solvent	Limit (ppm)	Concentration Concern
Benzene	2	Carcinogen
Carbon tetrachloride	4	Toxic and environmental hazard
1,2-Dichloroethane	5	Toxic
1,1-Dichloroethane	8	Toxic
1,1,1-Trichloroethane	1500	Environmental hazard

Klasse-1-Restlösemittel (zu vermeidende Lösungsmittel) Quelle: USP

Tabelle 3

Acetic acid	Heptane
Acetone	Isobutyl acetate
Anisole	Isopropyl acetate
1-Butanol	Methyl acetate
2-Butanol	3-Methyl-1-butanol
Butyl acetate	Methylethylketone
tert-Butylmethyl ether	Methylisobutylketone
Cumene	2-Methyl-1-propanol
Dimethyl sulfoxide	Pentane
Ethanol	1-Pentanol
Ethyl acetate	1-Propanol
Ethyl ether	2-Propanol
Ethyl formate	Propyl acetate
Formic acid	

Klasse-3-Restlösemittel (Lösungsmittel niedrigerer Toxizität) Quelle: USP

die Methode der Wahl. Die Pharmakopöen beschreiben unterschiedliche Methoden zur Probenvorbereitung (wasserlösliche oder nicht wasserlösliche Proben) und zur chromatographischen Bestimmung (verschiedene HS-GC-Parameter). Diese sind in der Ph.Eur. im Kapitel 2.4.24. «Identification and control of residual solvents» angegeben. Ziel der Probenvorbereitung ist die Freisetzung der Lösungsmittel aus dem Produkt, sodass es quantitativ für die anschliessende Analyse zur Verfügung steht. Dies ist gegeben, wenn sich die Probe komplett im gewählten Solvent löst. Als Solvent werden neben Wasser noch Dimethylsulfoxid, N,N-Dimethylformamid und 1,3-Dimethyl-2-Imidazolidinon angegeben. Für die Analyse von Wirkstoffen und Hilfsstoffen ist diese Auswahl meist ausreichend, oft gelingt es jedoch nicht ein fertiges Produkt mit einer Vielzahl von Komponenten vollständig zu lösen. Aus diesem Grund kann es nötig sein, ein anderes Lösungsmittel zur Probenvorbereitung einzusetzen, dessen Eignung jedoch gezeigt werden muss. Wird ein anderes Lösungsmittel als Wasser verwendet, muss zudem sichergestellt sein, dass dieses nicht im Produkt vorhanden sein könnte und somit zu testen



Laborbedarf _ Life Science _ Chemikalien



**... liefert
gebrauchsfertige
Reagenzien und
CHEMIKALIEN
für jeden und den
speziellen Bedarf.**

☎ 061/712 11 60

www.carlroth.ch
mit Neuheiten & Sonderangeboten

**Schlaue Laborfüchse
bestellen bei ROTH**

ROTH AG
Fabrikmattenweg 12 4144 Arlesheim
Tel: 061/712 11 60 Fax: 061/712 20 21
E-Mail: info@carlroth.ch Internet: www.carlroth.ch

wäre. Zudem ist zu beachten, dass bei der anschliessenden Headspace-Messung ein grosser Unterschied in Polarität und Dampfdruck zwischen Analyt und Solvent in der Regel zu einer grösseren Analytkonzentration in der Gasphase und somit zu grösseren Signalen führt. Ausserdem stellt die Vielzahl an zu untersuchenden Verbindungen hohe Anforderungen an die Reinheit des verwendeten Solvents.

Anzahl der Analyte reduzieren

Ist eine geeignete Probenvorbereitung gewählt, gilt es alle relevanten Lösungsmittel zu identifizieren und gegebenenfalls zu quantifizieren. Alleine die sichere Identifizierung der 59 in den Klassen 1–3 eingeteilten Lösungsmitteln ist mit grossem Aufwand verbunden. Da es bei dieser Anzahl von Verbindungen unausweichlich zu co-elution kommt, sind zur Identifizierung mindestens zwei verschiedene Analysen mit unterschiedlichen GC-Säulen und Parametern notwendig. Ausserdem ist die Zahl der Lösungsmittel nicht abschliessend. Beispielsweise sind Lösungsmittel wie Isopropylether oder Methylisopropylketon nicht aufgeführt, obwohl sie in der Produktion eine Rolle spielen können. Zudem können nicht alle Lösungsmittel mit den angegebenen Headspace-Methoden analysiert werden. Zur Bestimmung von z.B. Ethylenglykol muss auf andere Messtechniken wie die der direkten Injektion der Probelösung ausgewichen werden. Ist eine andere Analysenmethode nötig, gilt, dass die Eignung des eingesetzten Verfahrens zu belegen ist. Es empfiehlt sich daher, zunächst anhand der Herstellungsschritte des zu untersuchenden Produkts abzuklären, welche Lösungsmittel in der Probe vorhanden sein können. Dies reduziert die Anzahl der Analyte in aller Regel drastisch.

Ein weiteres Problem entsteht, wenn während der Headspace-Thermostatisierung (z.B. 80 °C, 60 min) ein Lösungsmittel

Tabelle 2

Solvent	PDE (mg/day ppm)	Concentration Limit (ppm)
Acetonitrile	4.1	410
Chlorobenzene	3.6	360
Chloroform	0.6	60
Cyclohexane	38.8	3880
1,2-Dichloroethene	18.7	1870
1,2-Dimethoxyethane	1.0	100
N,N-Dimethylacetamide	10.9	1090
N,N-Dimethylformamide	8.8	880
1,4-Dioxane	3.8	380
2-Ethoxyethanol	1.6	160
Ethylene glycol	6.2	620
Formamide	2.2	220
Hexane	2.9	290
Methanol	30.0	3000
2-Methoxyethanol	0.5	50
Methylbutylketone	0.5	50
Methylcyclohexane	11.8	1180
Methylene chloride	6.0	600
N-Methylpyrrolidone	5.3	530
Nitromethane	0.5	50
Pyridine	2.0	200
Sulfolane	1.6	160
Tetrahydrofuran	7.2	720
Tetralin	1.0	100
Toluene	8.9	890
Trichloroethylene	0.8	80
Xylene*	21.7	2170

* Usually 60% m-xylene, 14% p-xylene, 9% o-xylene with 17% ethyl benzene

Klasse-2-Restlösemittel (limitierte Lösungsmittel)

Quelle: USP

durch Reaktion der Probenmatrix entsteht, beispielsweise die Abspaltung von Methanol in Anwesenheit des bevorzugten Solvents Wasser. Aus den angesprochenen Gründen ist eine produktspezifische Validierung grundsätzlich vorteilhaft, in vielen Fällen sogar erforderlich.

Zur gaschromatographischen Bestimmung der Lösungsmittel sind in den beiden Pharmakopöen zwei verschiedene Systeme (A und B) beschrieben, welche je nach gewählter Probenvorbereitung mit drei verschiedenen Headspace-Parametern kombiniert werden können. Wie oben erwähnt, ist die Analyse mit beiden Systemen nötig, um eine Substanz zu identifizieren. System A verwendet eine GC-Säule mit einer stationären Phase aus 6% Polycyanopropylphenylsiloxan und 94% Polydimethylsiloxan. Die angegebenen GC-Parameter sind auf die Verwendung einer solchen Säule zugeschnitten. Dementsprechend beziehen sich die Parameter des System B auf eine mit Polyethylenglykol belegte Säule. Bei beiden Systemen beträgt die vorgegebene Säulen-

länge 30 m, jedoch kann zwischen unterschiedlichen Filmdicken und/oder Innendurchmessern gewählt werden. Je nach Matrix und Probenvorbereitung ist so ein gewisser Spielraum für die Säulenkapazität vorhanden. Zur Detektion erwähnt die Ph. Eur. neben einem Flammenionisationsdetektor (FID) auch noch den Einsatz eines Massenspektrometers oder eines Elektroneneinfangdetektors (ECD). Nach beiden Pharmakopöen soll zuerst System A verwendet werden. Die Praxis zeigt, dass hier in der Regel weniger Peaks co-eluiieren. System B dient lediglich zur Bestätigung der Identität von Lösungsmitteln, die mit System A positiv getestet wurden. Je nach Matrix und Analyt kann es jedoch sinnvoll sein, eine anschließende Quantifizierung auf System B durchzuführen.

Die Kombination von verschiedenen Arten der Probenvorbereitung inklusive Headspace-Bedingungen mit unterschiedlichen GC-Parametern verschafft dem Analytiker einerseits Freiraum, um eine breite Anzahl an Proben analysieren zu können, beinhaltet andererseits aber auch eine Reihe von Variablen, die es zu optimieren gilt. Auch hier ist es sinnvoll, das Vorgehen produktspezifisch zu betrachten. Nachdem die geeignete Probenvorbereitung und die



Bild: Ufag

Bestimmung von Restlösemitteln bei UFAG Laboratorien.

damit verbundenen HC-GC-Parameter betrachtet wurden, kann die erste Injektion der Probe auf System A und die anschließende Auswertung des Chromatogramms erfolgen. Hierzu wird die Retentionszeit der Peaks mit in den Pharmakopöen vorgegebenen Standards verglichen. Je nachdem, ob alle möglicherweise in dem Produkt vorkommenden Lösungsmittel bekannt sind und um welche Substanzen es sich handelt, können diese Standards aus käuflichen Gemischen oder aus einzelnen Referenz-

materialien hergestellt werden. In gleicher Weise werden Positivbefunde mit System B bestätigt. Mit einem abschliessenden Limitest auf einem der beiden Systeme kann festgestellt werden, ob die vorgegebenen Grenzwerte eingehalten werden. Zudem können Lösungsmittel mit dem Verfahren der Standardaddition quantifiziert werden.

Die Bestimmung von Restlösemitteln in pharmazeutischen Produkten stellt hohe Anforderungen an die eingesetzten analytischen Verfahren. Aufgrund der Vielzahl an Matrices und Analyten kommen oft verschiedene Messmethoden zum Einsatz. Dabei sollten die jeweiligen Analysenbedingungen sorgfältig gewählt und anschliessend produktspezifisch validiert werden.

Die UFAG Laboratorien haben das Verfahren zur Restlösemittelbestimmung optimiert und bieten neben dem Screening der Lösungsmittel auch Consulting zu dieser Richtlinie an.

Weitere Informationen:

Stefan Manz, Stv. Ressortleiter
Chromatographie Pharma

UFAG Laboratorien AG
CH-6210 Sursee
Telefon +41 (0)58 434 43 00
E-Mail: stefan.manz@ufag-laboratorien.ch
www.ufag-laboratorien.ch

Damit's auch morgen schmeckt



Qualität und Service.

Typisch Häny - alles aus einer Hand.



Wir sorgen dafür.

HÄNY

Häny AG - Pumpen, Turbinen und Systeme • Buechstrasse 20 • 8645 Jona
Tel. +41 44 925 41 11 • info@haeny.com • www.haeny.com



Basisseminar GHS Einstufung und Kennzeichnung

Unser erfolgreiches Seminar findet am 25. – 26.08.2010 im Atlashotel in Weil am Rhein statt.

Ihre Referenten sind Dr. Anita Hillmer, Volkswagen AG und Bernd Simmchen, SimmChem Software.

Anmeldung und Informationen:

Volkswagen Coaching GmbH, KundenServiceCenter

T +49 (53 61) 9 - 7 77 70

www.volkswagen-coaching.de

Noch Plätze frei!

