

Fokus Analytik

NEWSLETTER DER PRODUCT LINE ANALYTIK

APRIL 2020

AMINOSÄUREANALYTIK IM PHARMAUMFELD – IDENTIFIZIERUNG, REINHEITS- UND GEHALTSBESTIMMUNG

Den Bausteinen des Lebens auf der Spur

Aminosäuren sind Grundbestandteile jeglichen organischen Lebens auf der Erde und begegnen uns deshalb auch in vielen Bereichen des Alltags. Sei es gebunden in Form von Proteinen und Peptiden oder ungebunden als Zusatzstoff – beispielsweise in Nahrungsergänzungs- oder Futtermitteln. Insbesondere die Pharmaindustrie setzt Aminosäuren auch als Grundstoff zur Synthese von vielfältigen organischen Verbindungen ein, die dann zum Beispiel als Wirkstoffe in Arzneimitteln formuliert werden. Gerade bei einer pharmazeutischen Verwendung von Aminosäuren ist es unerlässlich, deren Reinheit und Gehalt spezifikationsgerecht mittels einer hierfür geeigneten Analysetechnik unter GMP zu belegen.

Vor diesem Hintergrund bietet die Product Line Analytik der Evonik Technology & Infrastructure GmbH Kunden unterschiedliche Ansätze, sich den verschiedenen Fragestellungen im Umfeld der Aminosäureanalytik anzunehmen. Typische Aufgabenstellungen, auf die die Analytik spezialisiert ist, sind unter anderem:

- Nachweis, Identifizierung und Quantifizierung von Spuren von Aminosäuren in Produkten der organischen Synthese, Arzneimitteln oder auch anderen Proben, beispielsweise aus der Nahrungsmittel- oder Futtermittelindustrie
- Gehaltsbestimmung und/oder Bestimmung von Verunreinigungen neben der Aminosäure als Hauptkomponente, entsprechend

der Spurenbestimmung unbekannter Substanzen (ninhydrinpositive Substanzen und Ammonium) nach den aktuellen Monographien von gelisteten Aminosäuren der Europäischen Pharmakopöe

- Zusammensetzung von Proteinen und Peptiden nach quantitativer Hydrolyse in die Aminosäurebausteine

Allen Aufgabenstellungen gemein ist die Frage nach der Trennung des vorliegenden Gemisches mit anschließender Detektion der Zielsubstanzen. Hier haben sich insbesondere flüssigchromatographische Verfahren bei der Aminosäureanalyse über Jahrzehnte hinweg bewährt und durchgesetzt. Als ein sehr gut etabliertes, da auch monographiertes Verfahren, kann die

Gradiententrennung von Aminosäuremischungen an Kationenaustauschersäulen bezeichnet werden. Dabei können durch die Wahl passender mobiler Phasen (je nach Zielanalyt z.B. eine Li- oder Na-haltige Pufferlösung) sowie Optimierung entsprechender Gradientenbedingungen nahezu alle essentiellen und nichtessentiellen Aminosäuren in einem Analysenlauf analysiert werden. Detektiert werden die chromatographisch getrennten Aminosäuren mittels UV-Detektion nach Derivatisierung mit Ninhydrin.

Durch die Derivatisierung werden die Aminosäuren in stark lichtabsorbierende Moleküle überführt, was eine sehr empfindliche Detektion und damit auch sehr gute Bestimmungsgrenzen für die einzelnen Aminosäuren in den jeweiligen Proben ermöglicht. ▶▶

►► In Abbildung 1 (Detektionswellenlänge 570 nm) und Abbildung 2 (Detektionswellenlänge 440 nm) ist ein Chromatogramm einer Aminosäurekalibrierung beispielhaft dargestellt. Hier erkennt man die hervorragende Selektivität, Spezifität und Sensitivität des flüssigchromato-

graphischen Bestimmungsverfahrens. Durch den speziellen Gradienten können simultan sowohl saure, neutrale als auch basische Aminosäuren und Ammonium (eluiert kurz nach Lysin) in einem Lauf erfasst werden. Eine Herausforderung ist das Erreichen eines langzeitstabilen chromatogra-

phischen Systems, da die Analysen sehr lange Laufzeiten von in der Regel über einem Tag aufweisen. Dies ist durch die kontinuierliche Betriebsweise und die langjährige Erfahrung auf dem Gebiet der Aminosäureanalytik gewährleistet.

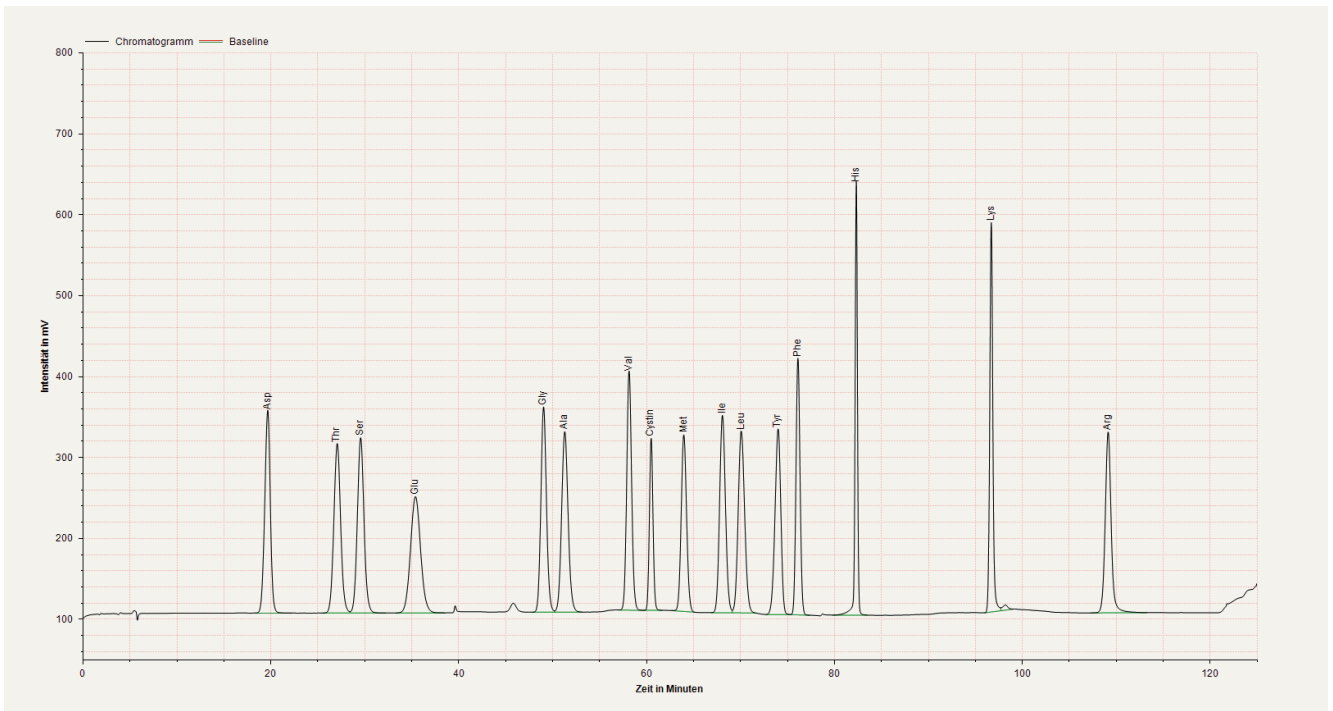


Abbildung 1: Chromatogramm einer Aminosäuren-Kalibrierlösung bei 570 nm (Detektion aller primären Amine); rund 1 – 2 mg der jeweiligen Aminosäure / 100 ml

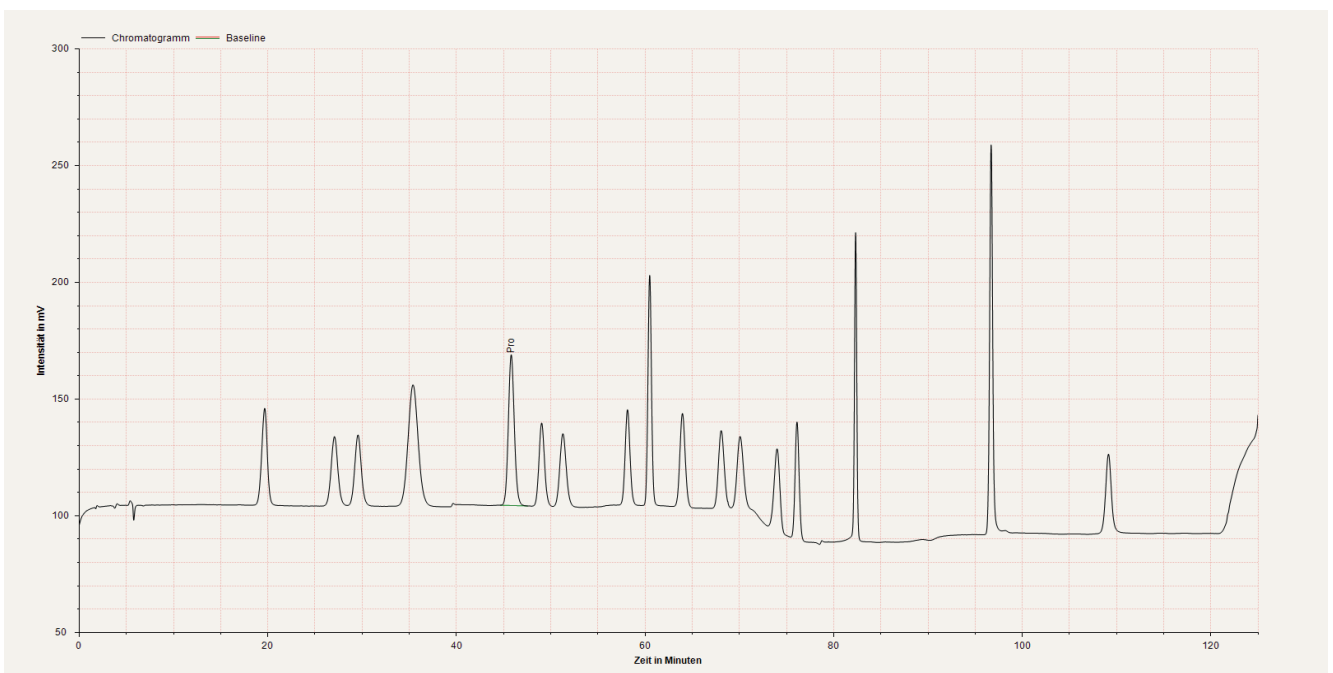


Abbildung 2: Chromatogramm einer Aminosäuren-Kalibrierlösung bei 440 nm (für sek. Amine, speziell Prolin); rund 1 – 2 mg der jeweiligen Aminosäure / 100 ml



►► Besonders im GMP-Umfeld setzt die Product Line Analytik auf Aminosäureanalysatoren (ASA). Um unsere Kunden im Pharmaumfeld jederzeit schnell und flexibel bedienen zu können, halten wir unsere Geräte (Beispiel: siehe Abb. 3) permanent gemäß den aktuellen GMP-Anforderungen qualifiziert. Dabei betreiben wir drei unter GMP-qualifizierte Systeme, um einen hohen Durchsatz und Redundanz gewährleisten zu können.



Abbildung 3:
Mitarbeiterin der Analytik neben einem Aminosäureanalytensystem

Zudem ist die Product Line Analytik darauf spezialisiert, Verifizierungen von Ph. Eur. Monographiemethoden unter GMP durchzuführen. Dies ist aus regulatorischen Gründen vor der ersten Analyse der jeweiligen Aminosäureart einmalig notwendig. Hierbei wird sichergestellt, dass die Verfahrenspräzision, das notwendige Limit of Quantification (LOQ) und auch die Richtigkeit des Analysenverfahrens gegeben ist. Neben der Analyse nach monographierten Methoden bieten wir ebenfalls die Entwicklung und Validierung von Methoden für nicht monographierte Aminosäuren bzw. Aminosäuremischungen im Pharma- und nicht Pharmaumfeld an. Dabei ist auch die Analyse von Peptiden, die eine Hydrolyse der Probe vor der Analyse als Probenvorbereitung beinhaltet, im Fokus. Hier muss zunächst eine reproduzierbare Hydrolyse der Proben entwickelt werden. Bei der Analyse auf S-haltige Aminosäuren (Cystin, Cystein, Methionin) ist dabei ein der Hydrolyse vorgeschalteter Oxidationsschritt notwendig. Im letzten Schritt kann dann wieder auf eine der bewährten Trenn- und Detektionstechniken der Aminosäureanalytik mit Ninhydrinnachsäulenderivatisierung zurückgegriffen werden.

Als punktuelle Ergänzung zu der sehr gut etablierten Aminosäureanalytik der Product Line Analytik mit Ninhy-

drinnachsäulenderivatisierung können in spezielleren Fällen auch Aminosäuretrennsysteme basierend auf konventionellen HPLC-Verfahren sinnvoll sein. Hier kann den Kunden im non-GMP Umfeld neben der HPLC-UV Technik auch die LC-MS Technik zur Lösung ihrer individuellen Probleme im Bereich der Aminosäureanalytik angeboten werden. Hierbei wird nach OPA-Derivatisierung der Aminosäuren (überwiegend vor der Trennsäule) im Reversedphase-Modus das jeweilige Gemisch getrennt und kann dann beispielsweise mittels MS/MS analysiert werden. Vorteil, vor allem im Hochdurchsatz (wie Analyse von Fermentationsbrühen), bieten Laufzeiten von rund 20 Minuten je Analyten und die direkte Möglichkeit der Analyse von unbekanntem Verunreinigungen in einem Schritt.

Das sind nur einige von vielen Möglichkeiten der Product Line Analytik zur Analyse von Aminosäuren. Die Experten der Analytik laden Kunden ein, im persönlichen Gespräch herauszufinden, wie dieses Potenzial bei der Bearbeitung ihrer Fragestellungen

eingesetzt werden kann. Ein hohes Qualitätsniveau aller Untersuchungen ist dabei selbstverständlich.

Gerne erstellen wir Ihnen für Ihre speziellen Fragen ein individuelles Angebot. Bitte sprechen Sie uns an!

IMPRESSUM

Evonik Technology & Infrastructure GmbH
Product Line Analytik

Standort Darmstadt
Kirschenallee
64293 Darmstadt

Standort Hanau
Rodenbacher Chaussee 4
63457 Hanau

Standort Marl
Paul-Baumann-Str. 1
45772 Marl

www.evonik.de/analytik

Kontakt:
analytik@evonik.com

Verantwortlicher:
Dr. Matthias Janik

Bilder: Evonik

Stand der Information:
April 2020