

Untersuchung des Tautomeren-Gleichgewichtes und Abbauprodukten von Everolimus mittels HPLC

Yvonne Höferlin

Bachelor-Thesis, MLS 2011, Bioanalytik

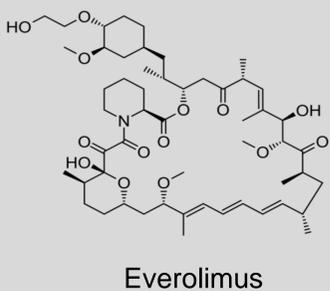
Auftraggeber: Florian Rost, Novartis Pharma AG
Experte: Dr. Markus Ehrat, EK Biosciences GmbH
Begleitdozent: Prof. Dr. Götz Schlotterbeck, FHNW Muttenz

ZUSAMMENFASSUNG

Das Ziel dieser Bachelorarbeit war es, die Anwendbarkeit einer generischen HPLC Methode (Ersatz für 6 Methoden) für alle Synthesestufen von Everolimus auf ihre Anwendbarkeit in der Routine QC und IPC zu untersuchen. Der Hauptfokus lag neben der Robustheit (Variation relevanter Chromatographie-Parameter und des Equipments) auch auf der möglichen Optimierung der Methode. Ausser den in den 7 Syntheseschritten spezifizierten Verunreinigungen, wurde mittels Stresstests auch nach bisher unbekanntem Verunreinigungen gesucht.

Die Methode zeigte dabei eine gute Reproduzierbarkeit für alle verwendeten Geräte und Proben. Es konnte bei den Einspritzvolumina und der Pufferkonzentration noch eine leichte Optimierung der Methode erzielt werden. Während der Stress- und Stabilitätstests wurde jedoch eine Diskrepanz zwischen Assay und dem Verunreinigungsprofil festgestellt. Hochauflösende LC-MS Messungen zeigten die Verunreinigungen als Oxidationsprodukte.

EINLEITUNG



Everolimus (RAD-001) ist ein makrozyklisches Lacton, das in der pharmazeutischen Industrie semi-synthetisch, gefolgt von einer chromatographischen Aufreinigung, zum Wirkstoff Everolimus derivatisiert wird. Der Wirkstoff wird als orale Darreichungsform für die prophylaktische Immunsuppression nach Organtransplantationen verwendet. Certican® und Zortress® wurden im Jahr 2004 und im Jahr 2009 Afinitor® für die Onkologie zugelassen.

Bei einem Methodentransfer, gemessen auf unterschiedlichen UHPLC Geräten (Shimadzu Nexera und Waters Alliance System), wurden starke Unterschiede in der Chromatographie beobachtet. Aus diesem Grund wurden weitere Untersuchungen zur Robustheit sowie Anwendbarkeit der Methode auf einem bisher nicht verwendeten Gerät (Dionex Ultimate 3000) untersucht.

Auch wenn Everolimus und Rapamycin schon mehrere Jahrzehnte bekannt sind, wurden erst in den letzten Jahren neue Abbau- und Nebenprodukte entdeckt. Die publizierten Verunreinigungen stammen jedoch hauptsächlich aus der Fermentation. Im Rahmen dieser Arbeit wurde darum das Augenmerk auf stabilitätsinduzierte Verbindungen gelegt (beschleunigte Degradationsstudien), die dadurch entstehen können. Alle Arbeiten wurden unter Beachtung interner SOPs und momentan geltenden Pharmakopöen^[1] und ICH^[2] durchgeführt.

RESULTATE

