



T.C.

**HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

İLAÇLARDAKİ NİTROZAMİN SAFSIZLIKLARININ BELİRLENMESİ

Muhammed ALJOUBASI

**KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**HATAY
EYLÜL - 2023**



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İLAÇLARDAKİ NİTROZAMİN SAFSIZLIKLARININ BELİRLENMESİ

Muhammed ALJOUBASI
ORCID:0000-0002-5509-410X

KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Prof. Dr. Şana SUNGUR
ORCID: 0000-0001-7370-8972

HATAY
EYLÜL - 2023

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İLAÇLARDAKİ NİTROZAMİN SAFSIZLIKLARININ BELİRLENMESİ

Muhammed ALJOUBASI

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Şana SUNGUR danışmanlığında hazırlanan bu tez / /2023 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **OYBİRLİĞİ** ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr.
Başkan

Doç. Dr.
Üye

Doç. Dr.
Üye

Doç. Dr.
Üye

Doç. Dr.
Üye

Kod No:

Doç. Dr. Cengiz KARACA
Enstitü Müdürü

Bu çalışma MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.
Proje No: 22.YL.014

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

21/08/2023

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

İmza

Muhammed ALJOUBASI

ÖZET

İLAÇLARDAKİ NİTROZAMİN SAFSIZLIKLARININ BELİRLENMESİ

Nitrozaminler son zamanlarda ilaçlarda tespit edilen son derece zararlı kanserojen, mutajenik ve teratojenik safsızlıklardır. Bu safsızlıklar, üretim sürecinde kullanılan reaktif, katalizör, çözücü veya ham maddeler yoluyla oluşarak ilaç maddelerine dahil olabildikleri gibi, ilaçlar üretildikten sonra da saklama koşullarına, ambalaj malzemelerine ve aktif maddelerin bozunma süreçlerine bağlı olarak da oluşabilmektedirler. Bu çalışmada, sartan etken maddesine sahip olan ilaçların N-nitrosodimetil amin (NDMA) ve N-nitrosodietil amin (NDEA) içerikleri, headspace GC-MS aracılığıyla belirlenmiştir. En yüksek NDMA konsantrasyonları losartan (67.05 mg kg^{-1}) etken maddesine sahip olan ilaçlarda, en yüksek NDEA konsantrasyonları ise kandesartan (22.48 mg kg^{-1}) ve olmesartan (20.13 mg kg^{-1}) etken maddelerine sahip olan ilaçlarda saptanmıştır. Her bir tabletteki NDMA miktarları $3.6 \cdot 10^{-4} - 1.7 \cdot 10^{-2} \text{ mg}$ arasında ve NDEA miktarları da $3.3 \cdot 10^{-4} - 8.8 \cdot 10^{-3} \text{ mg}$ arasında tespit edilmiştir. Elde edilen değerler kabul edilebilir alım limitlerinin (NDMA için 96 ng/gün ve NDEA için 26.5 ng/gün) üzerinde bulunmuştur.

2023, 33 sayfa

Anahtar Kelimeler: N-nitrosodimetil amin (NDMA), N-nitrosodietil amin (NDEA), sartan, ilaç, headspace GC-MS.

ABSTRACT

DETERMINATION of NITROSAMINE INVESTIGATIONS in MEDICINES

Nitrosamines are extremely harmful carcinogenic, mutagenic and teratogenic impurities that have been detected in drugs recently. These impurities can be included in the drug substances by being formed by the reagents, catalysts, solvents or raw materials used in the production process, or they can also occur after the drugs are produced, depending on the storage conditions, packaging materials and the decomposition processes of the active substances. In this study, N-nitrosodimethyl amine (NDMA) and N-nitrosodiethyl amine (NDEA) contents of drugs with sartan active ingredient were determined by headspace GC-MS. The highest NDMA concentrations were found in drugs with losartan (67.05 mg kg^{-1}) active ingredient, and the highest NDEA concentrations in drugs with active ingredients candesartan (22.48 mg kg^{-1}) and olmesartan (20.13 mg kg^{-1}). The amounts of NDMA in each tablet were found to be between $3.6 \cdot 10^{-4} - 1.7 \cdot 10^{-2} \text{ mg}$ and the amounts of NDEA between $3.3 \cdot 10^{-4} - 8.8 \cdot 10^{-3} \text{ mg}$. The values obtained were above the acceptable intake limits (96 ng/day for NDMA and 26.5 ng/day for NDEA).

2023, 33 pages

Keywords: N-nitrosodimethyl amine (NDMA), N-nitrosodiethyl amine (NDEA), sartan, drug, headspace GC-MS.

TEŞEKKÜR

Mesleki ve akademik hayatımda önemli kararlar almam gerektiğinde sürekli yanımda olan ve varlığı ile benim için önemli bir rol model oluşturan, gerek doktora tez konumunun belirlenmesinde gerek araştırılması ve yazımı sırasında sahip olduğu bilgi birikimi ve tecrübesi ile çalışmalarına ışık tutan ve yardımını esirgemeyen ve Şubat 2022'ye kadar danışmanlığımı yapan Dr. Öğretim Üyesi Zeki AYDIN'a ve sonrasında danışmanlığımı yürüten Prof. Dr. ŞANA SUNGUR'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım sırasında tüm bölüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi (HMKÜ) Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölüm Başkanlığı'na ve HMKÜ FBE Enstitüsü Müdürlüğü çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca beni maddi ve manevi olarak destekleyen, güvenen ve daima yanımda olan canım aileme sonsuz minnet ve şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	VII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Nitrozaminler.....	1
1.2. Nitrozaminlerin Oluşumu	1
1.3. Gıdalarda Nitrozamin Oluşumu	2
1.4. Nitrozaminlerin Sağlık Üzerine Etkileri.....	3
1.5. N-nitrozodietilamin (NDEA).....	4
1.6. N-nitrozodimetilamin (NDMA)	5
1.7. İlaçlarda Nitrozamin Oluşumu	6
1.8. Nitrozaminlerle İlgili Yasal Düzenlemeler	10
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	11
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	16
3.1. Materyal.....	16
3.1.1. Kullanılan Kimyasallar.....	16
3.1.2. Kullanılan Cihazlar.....	16
3.2. Yöntem	16
3.2.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Çözeltiler.....	16
3.2.2. İlaç Örneklerinin Temini	17
3.2.3. İlaç Örneklerinin Analize Hazırlanması	17
3.2.4. Kalibrasyon Doğrularının Oluşturulması	17
3.2.5. Gözlenebilme Sınırı (LOD), Belirlenebilme Sınırının (LOQ) ve Geri Kazanım Yüzdesinin Belirlenmesi	17
3.2.6. Headspace GC-MS Analizi	18
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	20
4.1. İncelenen Nitrozaminlere Ait Kalibrasyon Doğruları	20
4.2. İncelenen Nitrozaminlere Ait LOD, LOQ ve Alıkonma Süreleri	21
4.3. İlaç Örneklerinde Tespit Edilen Nitrozaminler ve Miktarları	21
4.4. İlaç Örneklerinin Her Bir Tabletindeki Nitrozaminler ve Miktarları.....	23
4.5. Elde Edilen Değerlerin Literatürdeki Verilerle Karşılaştırılması.....	24
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	27
KAYNAKLAR	30
ÖZGEÇMİŞ	33

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. N-nitrozodietilamin'in fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	5
Çizelge 1.2. N-nitrozodimetilamin'in fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	6
Çizelge 1.3. Tıbbi ürünlerdeki NDMA ve NDEA safsızlıklarının en yaygın kaynakları .	8
Çizelge 1.4. Nitrozaminler için kabul edilebilir alım limitleri.....	10
Çizelge 3.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	16
Çizelge 3.2. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Cihazlar	16
Çizelge 3.3. Headspace GC-MS çalışma koşulları	19
Çizelge 4.1. N-nitrozodimetil amin ve N-nitrozodietil amine ait LOD, LOQ ve alıkonma süreleri.....	21
Çizelge 4.2. İlaç örneklerinde tespit edilen N-nitrozodimetilamin ve N-nitrozodietilamin miktarları	22
Çizelge 4.3. İncelenen ilaç örneklerinin her bir tabletindeki N-nitrozodimetilamin ve N-nitrozodietilamin miktarları.....	24
Çizelge 4.4. İncelenen örneklerde saptanan nitrozamin miktarlarını literatürdeki değerlerle karşılaştırılması	25

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Nitrozamin molekülü	1
Şekil 1.2. İlgili moleküllerin kimyasal yapıları.....	7
Şekil 3.1. Çalışma aralığı grafiği	18
Şekil 4.1. N-nitrozodimetilamine ait 0.05 – 200 mg L ⁻¹ aralığındaki kalibrasyon doğrusu	20
Şekil 4.2. N-nitrozodietilamine ait 0.05 – 20 mg L ⁻¹ aralığındaki kalibrasyon doğrusu.	20
Şekil 4.3. NDMA ve NDEA’ e ait pikler	21



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

°C	: Derece Celsius
mmHg	: Milimetre Civa
µg	: Mikrogram
mg	: Miligram
g	: Gram
kg	: Kilogram
mL	: Mililitre
L	: Litre
µm	: Mikrometre
dak	: Dakika
ppm	: Part Per Million (milyon birimde bir birim)

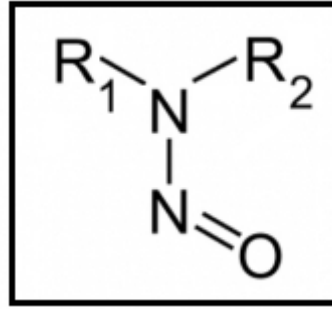
KISALTMALAR

FAO	: Food and Agriculture Organization of the United Nations
WHO	: World Health Organization
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı
EMA	: European Medicines Agency
NDEA	: N-nitrozodietilamin
NDMA	: N-nitrozodimetilamin
NPYR	: N-nitrozopirrolidin
NMOR	: N-nitrozomorfolin
NMEA	: N-nitrozometiletilamin
NPIP	: N-nitrozopiperidin
NDBA	: N-nitrozodibütilamin
LOD	: Gözlenebilme Sınırı
LOQ	: Belirlenebilme Sınırı

1. GİRİŞ

1.1. Nitrozaminler

Nitrozaminler kimyasal olarak oldukça aktif olan, $R_1R_2N-N=O$ fonksiyonel grubuna sahip amin türevleri olarak tanımlanmaktadırlar. R_1 ve R_2 alkil veya aril gruplarını göstermektedir. Uluslararası Kansere Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından nitrozaminlerin büyük bir çoğunluğu kanserojen olarak sınıflandırılmıştır. N-nitrozodietilamin (NDEA) ve N-nitrozodimetilamin (NDMA) 2A grubuna (insanlar için büyük ihtimalle kanserojen), N-nitrozopirrolidin (NPYR), N-nitrozomorfolin (NMOR), N-nitrozometiletilamin (NMEA), N-nitrozopiperidin (NPIP) ve N-nitrozodibütilamin (NDBA) ise 2B grubuna (insanlar için muhtemelen kanserojen) dahil edilmişlerdir (Yuan ve ark., 2015).



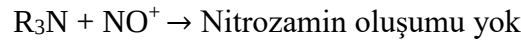
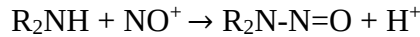
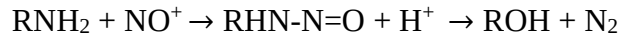
Şekil 1.1. Nitrozamin molekülü

Nitrozaminler kimyasal yapılarına göre uçucu ve uçucu olmayanlar olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. NDEA, NDMA, NPIP, NPYR, NMEA, N-nitrozodipropilamin (NDPA), N-nitrozadibütilamin (NDBA) uçucu nitrozaminlere örnek olarak verilebilir. Aromatik nitrozaminler ise uçucu olmayanlara örnek olarak verilebilir. Uçucu nitrozaminlerin fiziksel özellikleri benzerlik göstermektedir. Hem NDMA hem de NDEA sarı renkli olup, oda sıcaklığında sıvı halde bulunmaktadır. Suda, alkolde ve organik çözücülerde kolayca çözünmektedirler (Özbay, 2020).

1.2. Nitrozaminlerin Oluşumu

Bir aminin bir nitrozlayıcı madde ile tepkimeye girmesi sonucunda N-nitrozaminler oluşmaktadır. Nitrozlayıcı maddeler nitroz asit, nitrojen oksitler, nitrosil türleri ve nitrit

tuzları olabilmektedir. Primer aminlerle bir nitrozlayıcı madde tepkimeye girdiğinde primer amin hızla alkol ve azota dönüşmektedir. Sekonder aminler nitrozlayıcı madde ile tepkimeye girdiğinde $R_1R_2N-N=O$ fonksiyonel grubuna sahip nitrozaminleri oluşturmaktadır. Tersiyer aminler nitrozlayıcı madde ile tepkimeye girdiğinde nitrozamin oluşumu gerçekleşmemektedir. Nitrozamin oluşum mekanizması aşağıda gösterilmiştir (Honikel, 2008).



Nitrozaminlerin oluşumunda nitrozlayıcı maddelerin etkinliği önem taşımaktadır. Ayrıca, aminlerin yapısı, reaktiflerin ve inorganik iyonların konsantrasyonları da nitrozamin oluşumunu etkilemektedir. Nitrozaminler reaksiyon şartlarına ve bu reaksiyonları etkileyen koşullara bağlı olarak farklı ortamlarda da oluşabilmektedir. Nitrozaminlere salam, sosis, et, balık, tavuk, bira, margarin, bitkisel yağlar, peynir gibi gıda ürünlerinde, insan vücudunda, hayvansal doku ve organlar, salya, kan, idrar, serum gibi biyolojik örneklerde, su, hava, toprak, sigara dumanı gibi çevresel örneklerde, ilaçlarda, pestisitler, herbisitler gibi endüstriyel kimyasallarda rastlanmaktadır (Özbay, 2020).

1.3. Gıdalarda Nitrozamin Oluşumu

Bitkilerin verimini arttırmak amacıyla azotlu gübreler kullanıldığında, ihtiyaçtan fazlası bitkiler tarafından nitrat formunda depolanmaktadır. Gerek yeşil yapraklı bitkiler olsun gerekse de kök bitkiler topraktaki nitrati bünyelerine alabilmektedir. Sebzelerin nitrat içeriği 1 ile 10000 mg kg⁻¹ arasında değişmektedir (Özdestan ve Üren, 2010). Bu miktarlar bitkinin cinsinden, coğrafi koşullardan, iklimden etkilenmektedir. Nitrat iyonları doğrudan toksik olmasa da, enzimler aracılığıyla nitrit iyonlarına dönüştüğünde insan sağlığı açısından zararlı hale gelmektedir. Çünkü hemoglobin ile etkileşime girerek methemoglobin oluşumuna sebep olmaktadır. Hemoglobinin yapısında Fe(II) bulunurken, methemoglobinin yapısında Fe(III) bulunmaktadır. Methemoglobin oksijen bağlayamamakta ve sonuç olarak kan oksijen taşıyamamaktadır. Ayrıca nitrit iyonları

sekonder aminlerle tepkimeye girerek zararlı nitrozamin oluşumuna da neden olmaktadır (Cemek ve ark., 2007).

Sucuk, salam, sosis, pastırma gibi işlenmiş et ürünlerine koruyucu, renk verici, aromayı arttırıcı olarak nitrat ve nitritler eklenmektedir. Taze et ortamın oksijen miktarına bağlı olarak renk değiştirmektedir. Bu yüzden de, nitrat ve nitrit eklemek suretiyle etin rengi stabil tutulmaya çalışılmaktadır. Asidik koşullarda ortamdaki bakterilerin etkisiyle eklenen nitrat ve nitritler NO'e kadar indirgenebilmektedir. Bu durum da nitrozaminlerin oluşumuna katkı sağlamaktadır (Vural ve Öztan, 1992). Çiğ etin kokusu ile ısıtıl işlem görmüş etin kokusu aynı değildir. Çünkü aroma verici maddeler yüksek sıcaklıklarda aldehit, furan, alkol, lipid, kükürt içeren maddeler veya karbonillerin nitritlerle reaksiyona girmesi sonucunda oluşmaktadır (Atan, 2010). Ayrıca, nitritler antimikrobiyal etkiye sahip olup, bu etkilerini pH 5 ile 7 arasında gösterebilmektedirler. Etlere eklendiklerinde besin zehirlenmelerine neden olan mikroorganizmaların gelişimini önleyebilmektedirler (Skovgaard, 1992). Nitrat ve nitritler antioksidan etkilerinden dolayı da etlere eklenmektedirler. Yağların oksidasyonunu önleyerek etlerin raf ömürlerinin uzamasına katkıda bulunmaktadırlar (O'boyle ve ark., 1990). Ancak, nitritin bütün bu avantajlarına rağmen, mikroorganizmalar proteinleri amin ve aminoasitlere parçaladığında ortamda bulunan nitritlerle gerçekleşen kimyasal reaksiyonlar sonucunda nitrozaminler oluşmaktadır (Tricker ve Preussmann, 1991).

Yapılan çalışmalar nitrozamin oluşumunda raf ömrü ve depolama şartlarının da etkili olduğunu göstermiştir. Depolama süresi uzadıkça ya da ısıya maruz kaldıkça gıdalarda oluşan nitrozamin miktarlarının arttığı belirlenmiştir (De Mey ve ark., 2014). Ayrıca, olgunlaştırma süreci geçiren gıdalarda da bu süreç sırasında oluşan kimyasal ve mikrobiyolojik reaksiyonlar neticesinde nitrozaminlerin oluştuğu tespit edilmiştir (Xiao ve ark., 2018).

1.4. Nitrozaminlerin Sağlık Üzerine Etkileri

Kanser ile nitrozaminler arasındaki ilişki ilk kez 1950'li yıllarda ortaya konmuştur. Nitrit içeren yemlerle beslenen vizonlarda çok sayıda tümör oluşumu gözlenmiştir. Bu olay tümör oluşumu ile nitrozaminler arasındaki ilişkinin anlaşılmasına yol açmıştır (Horsch, 2013). 40 farklı çeşit deney hayvanı üzerinde gerçekleştirilen çalışmalar nitrozaminlerin kanserojen olduğunu göstermiştir. Ayrıca nitrozaminlerin 300'den fazla

çeşidi de kanserojen etkilere neden olmuştur. Bütün bu çalışmalardan sonra Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı 1987 yılında nitrozaminleri insanlar için de kanserojen olarak sınıflandırmıştır (IARC, 1987). Kanserojen etkilerinin yanı sıra nitrozaminlerin mutajenik, toksik ve teratojenik etkileri de söz konusudur (Özbay ve ark., 2019).

N-nitrozodimetilamine akut maruz kalmanın, insanlarda mide bulantısı, kusma, baş ağrısı ve halsizlik gibi semptomlarla birlikte karaciğer hasarına neden olabildiği belirtilmiştir. Solunum ve yutma yoluyla akut olarak maruz kalan hayvanlarda hematolojik ve şiddetli karaciğer etkileri (hemorajik nekroz) bildirilmiştir. Sıçanların, farelerin ve hamsterlerin akut maruziyetini içeren testler, N nitrozodimetilaminin inhalasyon veya oral maruziyetten kaynaklanan yüksek ila aşırı akut toksisiteye sahip olduğunu göstermiştir. İnsanların N-nitrozodimetilamine kronik olarak maruz kalması, karaciğer hasarına (sarılık ve şişme) ve düşük trombosit sayılarına neden olabilmektedir. Kronik oral maruziyetin, hayvanlarda ciddi karaciğer hasarına neden olduğu saptanmıştır. N-nitrozodimetilaminin insanlarda üreme veya gelişimsel etkileri hakkında hiçbir bilgi mevcut değildir. Enjeksiyon yoluyla N-nitrozodimetilamine maruz bırakılan sıçanlarda yapılan bir çalışmada, artan fetal ölüm gözlemlenmiş, ancak herhangi bir doğum kusuru kaydedilmemiştir. N-Nitrozodimetilamin hamile sıçanlara, farelere ve hamsterlere çeşitli yollarla uygulandığında yavrularda kansere neden olduğu gösterilmiştir. N-Nitrozodimetilamin'in çeşitli hayvan türlerinde kanserojen olduğu, çeşitli organlarda ve çeşitli maruz kalma yollarında tümörlere neden olduğu bulunmuştur (EPA, 2016).

Suriye altın hamsterlerinde, dietilnitrozaminin sondayla veya inhalasyon yoluyla uygulanması üzerine trakeal ve akciğer tümörleri gözlemlenmiştir. Gebe farelere, sıçanlara ve hamsterlere uygulanan dietilnitrozaminin transplasental olarak hareket ettiği ve yavruda tümörlere neden olduğu gösterilmiştir. Dietilnitrozamin, *S. typhimurium*, *E. coli* ve *Neurospora crassa* için mutajeniktir ve *S. cerevisiae*'de mitotik rekombinasyon, *D. melanogaster*'da resesif öldürücü mutasyonlar ve memeli hücrelerinde kromozomal anormallikler üretmiştir (EPA, 2016).

1.5. N-nitrozodietilamin (NDEA)

N-Nitrosodietilamin, oda sıcaklığında hafif sarı, uçucu bir sıvı olan bir nitrozamin bileşimidir. Su, etanol, eter, organik çözücüler ve lipidlerde çözünür. Karanlıkta nötr veya

alkali çözeltide en az 14 gün kararlıdır, ancak daha asidik çözeltelerde veya ışıktaki, özellikle ultraviyole ışıktaki daha az kararlıdır. N-nitrozodietilamin'in fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 1.1'de listelenmiştir.

Çizelge 1.1. N-nitrozodietilamin'in fiziksel ve kimyasal özellikleri

Özellik	Bilgi
Moleküler Ağırlık	102.1
Özgül Ağırlık	0.9422 (20 °C)
Erime Noktası	< 25 °C
Kaynama Noktası	175 °C - 170 °C
Log K _{ow}	0.48
Suda çözünürlük	106 g/L (24 °C)
Buhar Basıncı	0.86 mmHg (20 °C)

İnsanların N-nitrozodietilamine potansiyel maruz kalma yolları, yutma, solunum ve cilt temasıdır. İnsanlar gıdalarda, içeceklerde, tütün dumanında, içme suyunda ve endüstriyel kirlilikte bulunan N-nitrozodietilamin'e maruz kalabilmektedir. Hava, diyet ve sigara yoluyla maruziyetten alınan alımın günde birkaç mikrogram olduğu tahmin edilmektedir. N-Nitrozodietilamin, peynir, soya fasulyesi ve yağı, çeşitli et ürünleri, çeşitli tütülenmiş etler, sosisler, pişmiş jambon, balık ve balık ürünleri ve alkollü içeceklerde tespit edilmiştir. N-Nitrozodietilamin çevrede yaygındır, ancak güneş ışığıyla hızla ayrışmakta ve genellikle ortam havasında veya güneş ışığına maruz kalan suda kalıcı olmamaktadır (HSDB, 2009).

1.6. N-nitrozodimetilamin (NDMA)

N-Nitrozodimetilamin, oda sıcaklığında hafif karakteristik bir kokuya sahip sarı bir sıvı olarak bulunan bir nitrozamin bileşiğidir. Su, alkol ve eterde çok çözünür, metilen klorür ve bitkisel yağlarla karışabilir ve lipitler, kloroform ve diğer birçok organik çözücüde çözünür. Karanlıkta nötr veya alkali çözeltide en az 14 gün kararlıdır, ancak daha asidik çözeltelerde veya ışıktaki, özellikle ultraviyole ışıktaki daha az kararlıdır. N-nitrozodimetilaminin fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 1.2'de listelenmiştir.

Çizelge 1.2. N-nitrozodimetilamin'in fiziksel ve kimyasal özellikleri

Özellik	Bilgi
Moleküler Ağırlık	74.1
Özgül Ağırlık	1.0048 (20 °C)
Erime Noktası	< 25 °C
Kaynama Noktası	151 °C - 153 °C
Log Kow	-0.57
Suda çözünürlük	1,000 g/L (24 °C)
Buhar Basıncı	2.7 mmHg (20 °C)

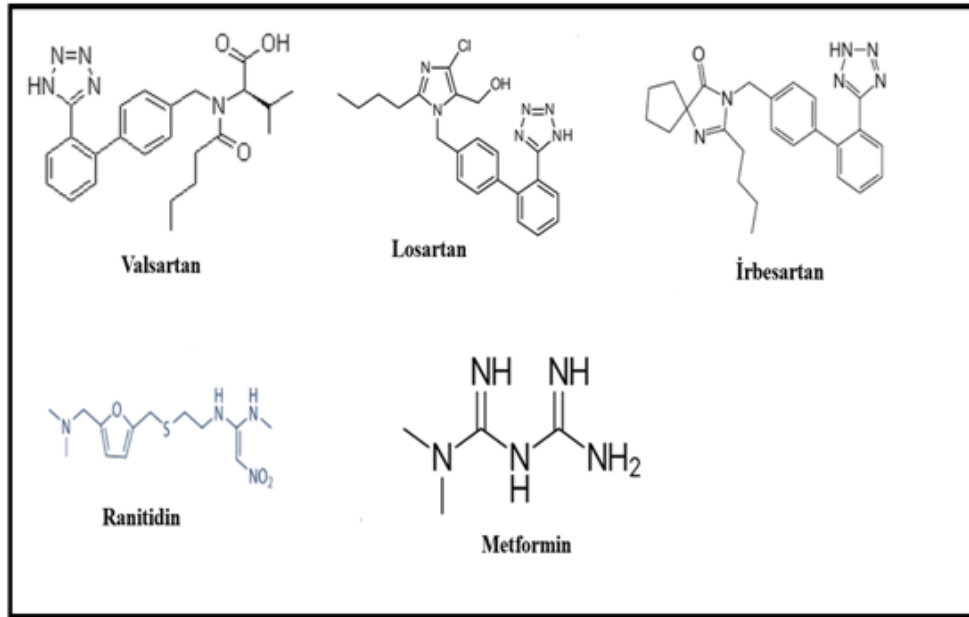
İnsanların N-nitrozodimetil amine potansiyel maruz kalma yolları, yutma, soluma ve cilt temasıdır. İnsanlar yiyecek ve içeceklerde, tütün dumanında, herbisitlerde, böcek ilaçlarında, içme sularında ve endüstriyel kirlilikte bulunan N-nitrozodimetilamin'e maruz kalabilmektedir. Hava, diyet ve sigara yoluyla maruziyetten kaynaklanan N-nitrozodimetilamin alımının günde birkaç mikrogram olduğu tahmin edilmektedir. N-Nitrozodimetilamin, peynir, soya fasulyesi yağı, çeşitli et ürünleri, domuz pastırması, çeşitli tütsülenmiş etler, soslar, pişmiş jambon, balık ve balık ürünleri, et terbiyesinde kullanılan baharatlar, elma brendi, diğer alkollü içecekler ve birada tespit edilmiştir. N-Nitrozodimetilamin de çevrede yaygındır, ancak güneş ışığıyla hızla ayrışmakta ve genellikle ortam havasında veya güneş ışığına maruz kalan suda kalıcı olmamaktadır (HSDB, 2009).

1.7. İlaçlarda Nitrozamin Oluşumu

Valsartan molekülü Novartis tarafından keşfedilmiştir. Tributiltinazid ile bir nitril ara ürününü tepkimeye sokarak tetrazol halkasını sentezlemişlerdir. Artan talep sonucunda ilacın muadilleri de üretilmeye başlanmıştır. Çin kökenli üreticilerden bazıları tributiltinazid yerine sodyum azid kullanmak suretiyle verimi arttırmaya çalışmışlardır. Bu değişiklik valsartanda nitrozaminlerin oluşumuna neden olmuştur. Ayrıca, reaksiyonu hızlandırmak, verimi arttırmak amacıyla kullanılan dimetilsülfoksit, dmetilformamid,

diizopropiletilamin, N-metilpirolidon, trietilamin, tetrabutilamonyum bromür ve trietilamonyum hidroklorür gibi maddeler nitroamin oluşumuna neden olan bileşiklerdir.

Bileşikler nitrozamin oluşumuna neden olabilmektedir. Losartanın kimyasal yapısında bifeniltetrazol grubu bulunmaktadır. Valsartanda olduğu gibi burada da tetrazol oluşumu sırasında nitrozaminler oluşabilmektedir. İrbesertan üretimi sırasında tetrazol halkası sentezin ön aşamalarında oluşturulduğunda nitrozamin oluşumunun engellendiği saptanmıştır. Ranitidin diğer sartan grubu ilaçlardan farklılık göstermektedir. Üretim aşamalarında nitrozaminlere rastlanmazken, sonrasında sıcaklık ve neme maruz kaldıkça nitrozaminler oluşmaktadır. Ranitidin imidazol yerine furan halkası içermektedir. Ayrıca molekül yapısında C-S bağı yer almaktadır. Yapılan araştırmalar bu bağı kopması sonucunda oluşan bozunma ürünlerinin kloramin ile tepkimeye girerek N-nitrozodimetil amin oluşumuna yol açtığını göstermiştir. 2-siyanoguanidin ile dimetilamin hidroklorürün tepkimesi sonucunda metformin hidroklorür oluşmaktadır. Ortamda bulunan dimetilaminin nitrozlayıcı ajanlarla karşılaşması sonucunda N-nitrozodimetil amin oluşabilmektedir. İlgili moleküllerin kimyasal yapıları Şekil 1.2’de gösterilmiştir.



Şekil 1.2. İlgili moleküllerin kimyasal yapıları

İlaçlarda oluşan nitrozaminlere kontamine başlangıç malzemeleri ve ara maddeler, reaktifler, çözücüler, katalizörler, üretim prosesinde yapılan hatalar, geri kazanılmış ve geri dönüştürülmüş malzemeler ve yeterli proses bilgisine sahip olmayan üreticiler sebep olmaktadır. Ayrıca, ilaçlarda üretildikten sonra da saklama koşullarına, ambalaj

malzemelerine ve aktif maddelerin bozunma süreçlerine bağlı olarak da nitrozaminler oluşabilmektedir. Nitroselüloz içeren ilaç ambalajları ısı aracılığıyla kapatılırken azot oksitler oluşabilmektedir. Bu durum da nitrozaminlerin oluşumuna zemin hazırlamaktadır (Akyüz ve Kadioğlu, 2023). Çizelge 1.3’de tıbbi ürünlerdeki NDMA ve NDEA safsızlıklarının en yaygın kaynakları özetlenmiştir.



Çizelge 1.3. Tıbbi ürünlerdeki NDMA ve NDEA safsızlıklarının en yaygın kaynakları

Etkin maddedeki nitrozamin kaynakları				
Nitrozamin	NO _x kaynağı	Amin kaynağı	NO _x ile	Kritik kombinasyon
Bileşiklerin kritik			NaNO ₂	
NDMA			Dimetilformamid	

(DMF)	nitrozlanmış amin		Reaktif/çözücü		
	Dimetilamin (DMA)				
kombinasyonları			Trietilamin (TEA)	Dietilamin (DEA)	Reaktif /reaktif
	NDEA	NaNO ₂	Trietilamin hidroklorür (TEA HCl)	Trietilamin (TEA)	Reaktif / katalizör
Reaktifler, çözücüler ve katalizörler	Kirlenmiş hammaddeler ve ara ürünler				
	Tetrazolün sentezi sırasında azid reaktifleri kullanılırsa, asidik koşullar altında tehlikeli hidrazoik asit oluşabilir ve açığa çıkan hidrazoik asit amin oluşumuna yol açabilir. Azidin kalan miktarları, sodyum nitrit ilavesiyle azot ve azot oksit gibi gaz halindeki yan ürünlere ayrışabilir.				
Üretim sürecindeki hatalar	Uygun sıcaklık ve pH'ın ayarlanamaması veya reaktiflerin uygun sırada eklenmemesi				
Geri kazanılmış ve geri dönüştürülmüş malzemeler	Azit içeren solventler reaksiyon adımlarında yeniden kullanılırsa, nitric asit ile ya da ikincil veya üçüncül aminlerin varlığında nitrit ile yapılan işlemler sırasında nitrozaminler oluşabilir. Etken madde üretiminde kullanılan proses suyunun, çevre kirliliği nedeniyle düşük seviyelerde nitrozamin içerme olasılığı da vardır.				
Üçüncü şahıs	Bazı geri kazanım şirketleri, işledikleri malzemelerin bileşimi hakkında yeterince bilgiye sahip olmadıkları için rutin prosedürleri ve genel kabul görmüş ekipmanları kullanırlar. Ekipmanlar müşteri siparişleri arasında uygun şekilde temizlenmezse veya nitrozamin oluşumunu önlemek için gerekli önlemler alınmazsa bu, solventlerin, reaktiflerin ve katalizörlerin (farklı kaynaklardan ve süreçlerden kaynaklanan) çapraz kontaminasyonuna yol açabilir.				
	Nitrit veya amin içeren ve işlenmesi nitrozamin oluşumuna yol açabilen geri kazanılmış malzemeleri veya ham maddeleri kullanan distribütörler.				
Bitmiş ürünlerin nitrozamin kontaminasyon kaynakları					
	Nitrozamin	NO _x kaynağı	Amin kaynağı	NO _x ile nitrozlanmış amin	Kritik kombinasyon
Belirli ambalaj malzemelerinin kullanımı	NDMA	Nitroselüloz (kapatma folyosunda)	Matbaa mürekkebi	Dimethylamine (DMA)	Kapatma folyosu/matbaa mürekkebi
	NDEA	Nitroselüloz (kapatma folyosunda)	Matbaa mürekkebi	Dietilamine (DEA)	Kapatma folyosu/matbaa mürekkebi
Depolama koşulları	Bazı depolanmış tıbbi malzemeler nitrozamin safsızlıklarını oluşturan bozunma yollarına maruz kalabilir. Metforminin kimyasal yapısı depolama sırasında nitrozamin oluşturma olasılığına da sahiptir. Metformin hidroperoksit oluşumu, diğer metformin moleküllerinin oksidasyonuna veya molekül içi oksidasyon yoluyla nitrozaminlerin oluşumuna yol açabilir, bu da yeniden düzenlemelere ve parçalanma reaksiyonlarına yol açar. Metformindeki yüksek azot içeriği nedeniyle, N - oksidasyonları için çok sayıda pozisyon mümkündür. Ayrıca, çok sayıda parçalanma reaksiyonu, termodinamik olarak kararlı nitrozamin türevlerinin oluşumuna yol açabilen moleküler yapının ayrışmasını sağlar.				
İlaçlardan endojen oluşumu	Nitritli ve nitriksiz ranitidinin farklı pH'lardaki çözeltileriyle gerçekleştirilen in vitro çalışmalar, ranitidine molekülünün yüksek nitrit seviyelerinde asidik mide pH'ında NDMA oluşumuna yol açtığını göstermiştir.				

1.8. Nitrozaminlerle İlgili Yasal Düzenlemeler

Avrupa İlaç Ajansı (EMA) ve Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) nitrozaminler için günlük kabul edilebilir alım limitlerini belirlemişlerdir. Bu değerler Çizelge 1.3’de gösterilmiştir.

Çizelge 1.4. Nitrozaminler için kabul edilebilir alım limitleri

Nitrozamin	Alım Limiti (ng/gün)
N-nitrozodimetilamin	96.00
N-nitrozodietilamin	26.50
N-nitrozo-N-metil-4-aminobütirik asit	96.00
N-Nitrozometilfenilamin	26.50
N-nitrozoizopropiletilamin	26.50
N-nitrozodiizopropilamin	26.50

En hassas tür olarak bilinen sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda hesaplanan TD50 değerleri N-nitrozodimetilamin için 0.096 mg/kg/gün, N-nitrozodietilamin için ise 0.0265 mg/kg/gün’dür. Kansere açısından ortaya çıkabilecek risk düzeyi, TD50’yi 50.000’e bölerek teorik olarak 1:100.000 riske neden olan doza lineer geri ekstrapolasyon ile hesaplanmaktadır. N-nitrozodimetilamin için bu değer 1.92 ng/kg/gün, N-nitrozodietilamin için ise 0.53 ng/kg/gün’dür. 50 kg’lık bir yetişkin için alım limiti N-nitrozodimetilamin için $50 \times 1.92 = 96$ ng/gün şeklinde, N-nitrozodietilamin için de $50 \times 0.53 = 26.5$ ng/gün şeklinde hesaplanmaktadır (Akyüz ve Kadioğlu, 2023).

Nitrozaminlerin sağlık üzerine birçok zararlı etkileri olması nedeniyle tolere edilebilir alım dozları ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalardan bir tanesinde nitrozaminler için günlük tolere edilebilir miktar 5-10 µg/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiştir (Campillo ve ark., 2021). Bir başka çalışmada nitrozaminlerin muhtemel kanserojenik dozları hesaplanmıştır. Bu değerler N-nitrozodimetilamin için 51 mg/kg vücut ağırlığı/gün; N-nitrozodietilamin için 150 mg/kg vücut ağırlığı/gün; N-nitrozometilamin için 22 mg/kg vücut ağırlığı/gün; N-nitrozodipropilamin için 7 mg/kg vücut ağırlığı/gün; N-nitrozodibutilamin için 5.4 mg/kg vücut ağırlığı/gün olarak bulunmuştur (Lag, 2011).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Tsutsumi ve arkadaşları (2019), Japonya'da yüksek tansiyon ve kalp yetmezliği tedavilerinde kullanılan valsartan etkin maddeli ilaçların N-nitrozodimetilamin (NDMA) içeriklerini GC-MS aracılığıyla incelemişlerdir. Tabletlerde ortalama 4.1 µg NDMA tespit etmişlerdir. Ayrıca ticari olarak satılan valsartan etkin maddesinin NDMA içeriğine de bakmışlar ve ortalama 59 µg g⁻¹ olarak belirlemişlerdir.

Abe ve arkadaşları (2020), mide yanmasını gidermek amacıyla kullanılan ranitidin tabletlerinin N-nitrozodimetilamin (NDMA) içeriklerinin yüksek sıcaklıkta depolama sonucunda nasıl değiştiğini araştırmışlardır. Bu amaçla 2 farklı markaya ait ranitidin etkin maddesine sahip tabletleri 40 °C'de ve %75 nemli ortamda 8 hafta süreyle depolamışlardır. A markalı ilaçların NDMA içeriklerinin 0.19 ppm'den 116 ppm'e, B markalı ilaçların NDMA içeriklerinin ise 2.89 ppm'den 18 ppm'e yükseldiğini tespit etmişlerdir. NDMA analizlerini LC-MS/MS aracılığıyla gerçekleştirmişlerdir. Belirlemiş oldukları değerlerin kabul edilebilir günlük alım miktarının (0.32 ppm) çok çok üzerinde olduğunu ve depolama koşullarına dikkat etmek gerektiğini ifade etmişlerdir.

Zmysłowski ve arkadaşları (2020), metformin içeren 105 adet ilacın N-nitrozodimetilamin (NDMA) içeriklerini GC-MS/MS aracılığıyla incelemişlerdir. Bu 105 ilacın 86 tanesinde NDMA tespit etmişlerdir. 500 mg metformin içeren ilaçlarda 0.017 – 0.176 ppm arasında, 850 mg metformin içeren ilaçlarda 0.016 – 0.145 ppm arasında, 1000 mg metformin içeren ilaçlarda 0.017 – 0.179 ppm arasında NDMA belirlemişlerdir. Sonuç olarak, üretim süreci sırasında NDMA oluşumunun gerçekleştiğini ve bu nedenle mevcut ilaçların kalitesini ve güvenliğini sağlamak için bitmiş ürünlerin rutin analizlerinin yapılması gerektiğini ifade etmişlerdir.

Lim ve arkadaşları (2020), sartan, ranitidin ve metformin içeren çeşitli ilaçların N-nitrozodimetilamin ve N-nitrozometiletilamin içeriklerini GC-MS/MS aracılığıyla incelemişlerdir. N-nitrozodimetilamin içeriklerini ortalama olarak valsartan etkin maddesine sahip ilaçlarda 0.004 mg kg⁻¹, ranitidin etkin maddesine sahip ilaçlarda 0.012 mg kg⁻¹ ve fimasartan etkin maddesine sahip ilaçlarda 0.062 mg kg⁻¹ olarak belirlemişlerdir. N-nitrozometiletilamin içeriklerini ise ortalama olarak irbesartan ve rosartan etkin maddelerine sahip ilaçlarda sırasıyla 0.009 ve 0.008 mg kg⁻¹ olarak bulmuşlardır.

Chang ve arkadaşları (2020), etkin maddesi valsartan, losartan ve irbesartan olan 557 adet ilacın nitrozamin içeriklerini LC-MS/MS aracılığıyla incelemişlerdir. Valsartan içeren ilaçlardan 53 tanesinde N-nitrozodimetilamin (NDMA) içeriğini $0.10 - 137.60 \mu\text{g g}^{-1}$ arasında, 11 tanesinde N-nitrozodietilamin (NDEA) içeriğini $0.07 - 6.90 \mu\text{g g}^{-1}$ arasında, 1 tanesinde N-nitrozodibutilamin (NDBA) içeriğini $0.14 \mu\text{g g}^{-1}$ olarak, 2 tanesinde N-nitrozomorfolin (NMOR) içeriğini $0.16 \mu\text{g g}^{-1}$ olarak, 2 tanesinde N-nitrozopiperidin (NPIP) içeriğini $0.12 \mu\text{g g}^{-1}$ olarak belirlemişlerdir. Etkin maddesi losartan olan ilaçlarda NDMA, NMOR ve NPIP bulamamışlardır. 4 tanesinde NDEA içeriğini $0.08 - 0.23 \mu\text{g g}^{-1}$ arasında, 32 tanesinde NDBA içeriğini $0.22 - 27.40 \mu\text{g g}^{-1}$ arasında saptamışlardır. Etkin maddesi irbesartan olan ilaçlarda ise NDMA, NDBA, NMOR ve NPIP tespit edememişlerdir. 5 tanesinde NDEA içeriğini de $0.11 - 0.12 \mu\text{g g}^{-1}$ arasında bulmuşlardır.

Liu ve arkadaşları (2021), 11 farklı ilaç firması tarafından üretilen ve etkin maddeleri ranitidin hidroklorür ve ranitidin citrat olan kapsüller ile ranitidin iğneden oluşan toplam 21 örneğin N-nitrozodimetilamin içeriğini incelemişlerdir. Çalıştıkları örneklerde 3.38 ile 57.05 ng mL^{-1} arasında N-nitrozodimetilamin tespit etmişlerdir. 7 örnekte saptamış oldukları N-nitrozodimetilamin miktarlarının kabul edilebilir limitlerin üzerinde olduğunu belirtmişlerdir. Bu yüzden ilaçların N-nitrozodimetilamin içeriklerinin belirlenmesi gerektiğini ifade etmişlerdir.

Chang ve arkadaşları (2021), etkin maddesi sartan olan 521 adet ilacın nitrozamin içeriklerini GC-MS/MS aracılığıyla incelemişlerdir. Valsartan içeren 192 adet ilacın 54 tanesinde 0.06 ile $99.79 \mu\text{g g}^{-1}$ arasında N-nitrozodimetilamin, 11 tanesinde 0.11 ile $8.84 \mu\text{g g}^{-1}$ arasında N-nitrozodietilamin, 1 tanesinde $0.12 \mu\text{g g}^{-1}$ N-nitrozodifenilamin, 2 tanesinde $0.16 \mu\text{g g}^{-1}$ N-nitrozomorfolin, 2 tanesinde $0.12 \mu\text{g g}^{-1}$ N-nitrozopiperidin saptamışlardır. Losartan içeren 266 adet ilacın 4 tanesinde 0.07 ile $0.20 \mu\text{g g}^{-1}$ arasında N-nitrozodietilamin, 1 tanesinde $0.10 \mu\text{g g}^{-1}$ N-nitrozodifenilamin bulmuşlardır. İrbesartan içeren 63 adet ilacın da 5 tanesinde 0.10 ile $0.14 \mu\text{g g}^{-1}$ N-nitrozodietilamin, 1 tanesinde $0.06 \mu\text{g g}^{-1}$ N-nitrozodifenilamin tespit etmişlerdir.

Doshi ve arkadaşları (2021), metformin içeren 425 adet ilacın N-nitrozodimetilamin (NDMA) içeriklerini incelemişlerdir. Tüm ilaçlarda belirlemiş oldukları NDMA miktarlarının $\leq 30 \text{ ng/gün}$ şeklinde olduğunu belirtmişlerdir.

Dolayısıyla ilaçlardaki NDMA miktarlarının izin verilen maksimum limit değerinden daha düşük olduğunu (96 ng/gün) ve güvenle kullanılabileceklerini ifade etmişlerdir.

Campillo ve arkadaşları (2021), ranitidin etken maddesine sahip ilaçların nitrozamin içeriklerini belirlemek amacıyla mikroekstraksiyon ve GC-MS yöntemlerini kullanarak yeni bir metot geliştirmişlerdir. Ardından geliştirdikleri metodu 150 ve 300 mg ranitidin içeren 7 adet ilaç üzerinde denemişlerdir. 5 adet ilaçta N-nitrozodimetilamin (NDMA) ve N-nitrozodibutilamin (NDBA) tespit edememişlerdir. 150 mg ranitidin içeren bir ilaçta NDMA ve NDBA miktarlarını sırasıyla 1473 ve 79 ng g⁻¹ olarak, 300 mg ranitidin içeren bir ilaçta ise NDMA ve NDBA miktarlarını sırasıyla 1869 ve 162 ng g⁻¹ olarak belirlemişlerdir. 4 adet ilaçta N-nitrozodifenilamin (NDPhA) tespit edememişlerdir. 150 mg ranitidin içeren iki ilaçta NDPhA miktarlarını 15.2 ve 31 ng g⁻¹ olarak, 300 mg ranitidin içeren bir ilaçta ise NDPhA miktarını 20 ng g⁻¹ olarak saptamışlardır.

Keire ve arkadaşları (2022), metformin içeren 875 adet ilacın N-nitrozodimetilamin (NDMA) içeriklerini araştırmışlardır. İnceledikleri ilaçların 540 tanesinde N-nitrozodimetilamin tespit edememişlerdir. 54 adet ilacın NDMA içeriğini tayin sınırlarının altında bulmuşlardır. 125 adet ilaçta izin verilen maksimum limitlerin altında NDMA (≤ 32 ppb) tespit etmişlerdir. 156 adet ilaçta ise izin verilen maksimum limitlerin üzerinde NDMA belirlemişlerdir. Bunların 76 tanesinde 32-64 ppb arasında, 49 tanesinde 64-128 ppb arasında, 25 tanesinde 128-256 ppb arasında ve 6 tanesinde 256-688 ppb arasında NDMA varlığını saptamışlardır.

Vogel ve Norwig (2022), irbesartan, prometazin, trimipramin-maleat, valsartan, difenhidramin, metformin ve ranitin içeren ilaç ve aktif farmasötik bileşenlerin N-nitrozodimetilamin (NDMA) içeriklerini LC-MS/MS aracılığıyla incelemişlerdir. İrbesartan içeren film kaplı tablette NDMA tespit edememişlerdir. Prometazin, valsartan, difenhidramin ve ranitin içeren aktif farmasötik bileşenlerin NDMA içeriklerini sırasıyla 2.2, 17.57, 236 ve 1476.2 ppm olarak, trimipramin-maleat ve metformin içeren film kaplı tabletlerin NDMA içeriklerini ise sırasıyla 3.5 ve 45.9 ppm olarak belirlemişlerdir.

Luo ve arkadaşları (2022), ilaçlardaki nitrozamin safsızlıklarını belirlemek amacıyla kullanılmak üzere tuzsuz sıvı-sıvı ekstraksiyonu ve LC-MS/MS ile birleştirilmiş yeni bir yöntem geliştirmişlerdir. Yöntemin 0.5 ile 5.0 µg L⁻¹ aralığında mükemmel bir lineerlik gösterdiğini ve geri kazanım yüzdesinin 75.4 ile 114.7 arasında olduğunu

belirtmişlerdir. Geliştirdikleri metodu 8 ilaç numunesi üzerinde denemişlerdir. İlaçlarda 12 farklı çeşit nitrozaminin varlığını araştırmışlar ve sadece N-nitrozodimetilamin (NDMA), N-nitrozodietilamin (NDEA), N-nitrozodibutilamin (NDBA) ve N-nitrozodiizobutilamin (NDIBA) tespit edebilmişlerdir. İlaçlarda belirledikleri tüm nitrozaminlerin miktarlarını $0.25 \mu\text{g L}^{-1}$ 'den daha düşük olarak bulmuşlardır.

Tay ve arkadaşları (2022), ilaçlardaki nitrozamin safsızlıklarını belirlemek amacıyla dispersif inklüzyon kompleks mikroekstraksiyon ile UPLC-MS/MS'i birleştirerek yeni bir yöntem geliştirmişlerdir. Yöntemin 0.036 ile 1 ng ml^{-1} arasında mükemmel bir lineerliğe sahip olduğunu, tayin limitinin düşük olduğunu ($0.011 - 0.018 \text{ ng ml}^{-1}$) ve geri kazanım yüzdesinin de 96 ile 105 arasında olduğunu belirtmişlerdir. Ardından geliştirdikleri yöntemi direkt UPLC-MS/MS yöntemi ile karşılaştırmışlardır. Bu amaçla valsartan ve losartan içeren tabletlerin ve ranitidin içeren enjeksiyon ilacın nitrozamin içeriklerini incelemişlerdir. Her iki yöntem ile de tabletlerde herhangi bir nitrozamin tespit edememişlerdir. Ranitidin içeren enjeksiyon ilaçta direkt UPLC-MS/MS yöntemi ile $0.082 \mu\text{g g}^{-1}$ N-nitrozodimetilamin saptarken, geliştirdikleri yöntem ile $0.083 \mu\text{g g}^{-1}$ N-nitrozodimetilamin tespit etmişlerdir.

Tarawneh ve arkadaşları (2022), valsartan etkin maddesine sahip ilaçların N-nitrozodimetil amin (NDMA) içeriklerini hem HPLC hem de LC-MS/MS aracılığıyla incelemişlerdir. Bu amaçla her iki yöntemi de geliştirmeye çalışmışlardır. Sonrasında HPLC kullanarak geliştirdikleri metodu 20 adet ilaç üzerinde denemişlerdir. Sadece 4 ilaçta NDMA saptamışlardır. NDMA miktarlarını 0.112 , 59.3 , 0.635 ve $0.01518 \text{ mg kg}^{-1}$ olarak tespit etmişlerdir.

Maviş ve arkadaşları (2023), valsartan ve irbesartan içeren hem aktif farmasötik bileşenlerin hem de ilaç örneklerinin nitrozamin içeriklerini belirlemek amacıyla LC-APCI-MS/MS kullanarak yeni bir tayin yöntemi geliştirmişlerdir. Çalışmalarında HPH-C18 kolonu kullanmışlar ve gradient elüsyonu uygulamışlardır. Hareketli faz olarak % 0.2 'lik formik asidin sulu çözeltisini ve metanolü kullanmışlardır. Geliştirdikleri yöntemin tayin sınırını 0.001 ile 0.008 ppm arasında, rölatif standart sapma yüzdelelerini ise aktif farmasötik bileşenler için 73.1 ile 115.2 arasında, ilaç numuneleri için 80.2 ile 128.5 arasında tespit etmişlerdir.

Zhang ve arkadaşları (2023), anjiyotensin reseptör blokerlerinde bulunabilecek 4 nitrozamin safsızlığını (N-nitrozoetilizopropilamin, N-nitrozodibutilamin, N-nitrozo-N-

metil- 4-aminobutirik asit, N-nitrozodiizopropilamin) belirlemek amacıyla yeni bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu amaçla, mikro katı faz ekstraksiyonu MS/MS metodunu kullanmışlardır. Geliştirdikleri metodu valsartan, losartan, olmesartan, irbesartan ve telmisartan etkin maddelerine sahip ilaçlar üzerinde denemişlerdir. İnceledikleri ilaçlarda N-nitrozoetilizopropilamin, N-nitrozodibutilamin ve N-nitrozodiizopropilamin tespit edememişlerdir. Ancak N-nitrozo-N-metil- 4-aminobutirik asit içeriğini 0.7 ile 21.4 ppm arasında bulmuşlardır.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Kimyasallar

Deneyler sırasında kullanılan kimyasal maddeler Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kimyasalın Adı	Üretici Firma	Katalog No
N-Nitrozodimetilamin sertifikalı referans materyal	Sigma	40059
N-Nitrozodietilamin sertifikalı referans materyal	Sigma	40334
Metanol	Merck	106035

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Deneyler sırasında kullanılan cihazlar Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Cihazlar

Cihaz	Marka	Model
Saf su cihazı	New Human Power	New Human Power I
Hassas terazi	Radwag	AS 220/C/2
Çalkalayıcı	Heidolph	İnkubator 1000
Santrifüj	Hettich Zentrifügen	EBA 20
HPLC	Shimadzu Prominence	CBM 20A

3.2. Yöntem

3.2.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Çözeltiler

Deneyisel çalışmalar sırasında kullanılan çözeltiler aşağıda verilmiştir.

- **200 ppm'lik N-Nitrozodimetilamin çözeltisi** : 5000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 'lik sertifikalı referans materyal N-Nitrozodimetilamin'den 1 ml alınıp, 25 ml metanolde çözülerek hazırlanmıştır.
- **20 ppm'lik N-Nitrozodietilamin çözeltisi** : 5000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 'lik sertifikalı referans materyal N-Nitrozodietilamin'den 1 ml alınıp, 250 ml metanolde çözülerek hazırlanmıştır.

3.2.2. İlaç Örneklerinin Temini

Eczanelerden valsartan, losartan, telmisartan, olmesartan, kandesartan, irbesartan gibi çeşitli sartan aktif maddelerine sahip 20 adet ilaç alınmıştır.

3.2.3. İlaç Örneklerinin Analize Hazırlanması

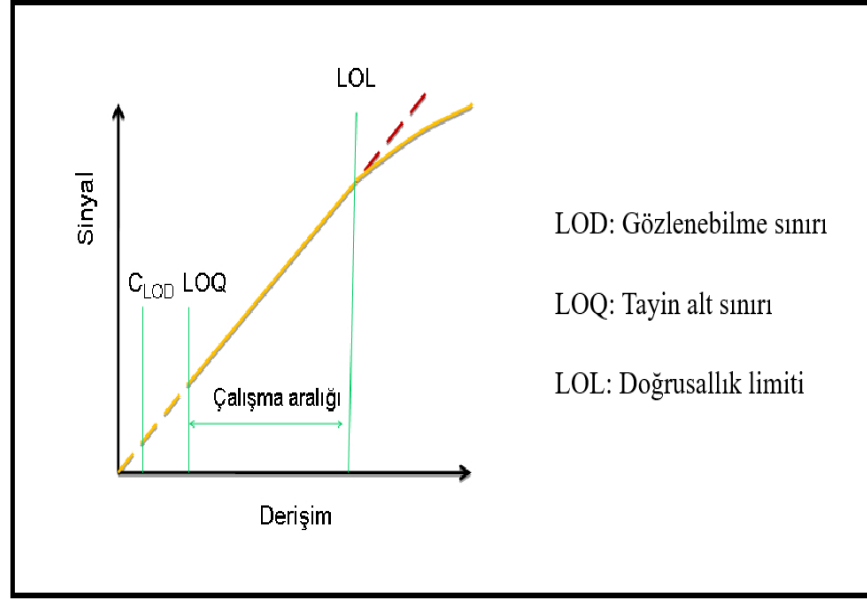
İlaç örneklerinden 0.1 gram tartıldıktan sonra üzerlerine 2 ml dimetilsülfoksit eklenmiştir. İyice karıştırıldıktan sonra headspace vialine aktarılmışlardır.

3.2.4. Kalibrasyon Doğrularının Oluşturulması

N-nitrozodimetilaminin metanoldeki 0.05 – 200 mg L^{-1} ve N-nitrozodietilaminin metanoldeki 0.05 – 20 mg L^{-1} konsantrasyonları arasında standart çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltilerden yararlanılarak kalibrasyon doğruları oluşturulmuştur.

3.2.5. Gözlenebilme Sınırı (LOD), Belirlenebilme Sınırının (LOQ) ve Geri Kazanım Yüzdesinin Belirlenmesi

Herbir nitrozamin bileşiği için 20'şer adet şahit numunelerine ait ölçümlerin standart sapmaları hesaplanarak LOD ve LOQ değerleri aşağıdaki formüller aracılığıyla belirlenmiştir (Sağırlı, 2017).



Şekil 3.1. Çalışma aralığı grafiği

S : Sinyal

$$S_{LOD} = S_b + k\partial_b$$

$$S_{LOD} = S_b + 3\partial_b \text{ (% 95 olasılıkla gözlenebilir sinyal)}$$

S_b : Boş çözeltinin (şahit) sinyali

∂_b : Boş çözeltinin standart sapması

Çalışma aralığı grafiği için;

$$S = mC + S_b \quad m: \text{Eğim} \quad C: \text{Derişim}$$

$$S_{LOD} = mC_{LOD} + S_b$$

$$mC_{LOD} + S_b = S_b + 3\partial_b$$

$$mC_{LOD} = 3\partial_b$$

$$C_{LOD} = \frac{3\partial_b}{m}$$

Tayin sınırı $k=10$ için de

$$C_{LOQ} = \frac{10\partial_b}{m}$$

3.2.6. Headspace GC-MS Analizi

Headspace GC-MS çalışma koşulları Çizelge 3.3’de gösterilmiştir.

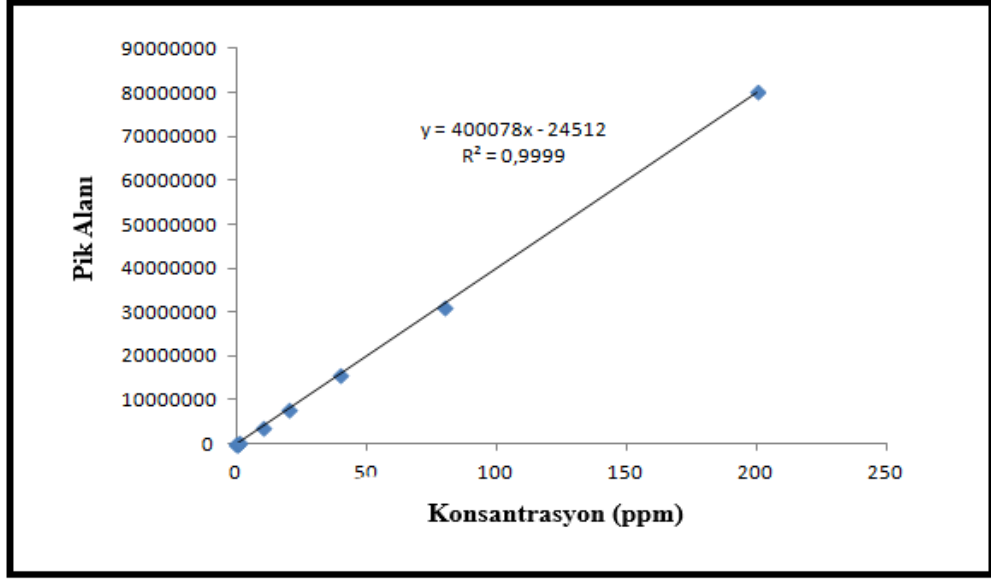
Çizelge 3.3. Headspace GC-MS çalışma koşulları

Headspace Çalışma Şartları			
Kullanılan Cihaz	Agilent 7697 A		
Fırın Sıcaklığı	120 °C		
Örnek Line Sıcaklığı	125 °C		
Transfer Line Sıcaklığı	130 °C		
Gaz Basıncı	103 kPa		
Dengeleme Süresi	15 dak		
GC Çalışma Şartları			
Kullanılan Cihaz	Agilent 7890 A		
Kolon	DB WAX (50 m, 0.20 mm, 0.20 µm)		
Taşıyıcı Gaz	Helyum		
Akış Hızı	2 ml/dak		
Enjektör Sıcaklığı	240 °C		
Dedektör Sıcaklığı	240 °C		
Sıcaklık Programı	Artış	Sıcaklık	Bekleme
	(°C/dak)	(°C)	Süresi (dak)
	-	40	2
	10	120	2
	25	230	5
MS Çalışma Şartları			
Kullanılan Cihaz	Agilent 5975 C		
İyonizasyon Modu	EI (70 eV)		
Mod	SIM		
m/z değerleri	NDMA	NDEA	
	74, 42, 43	102, 57, 56, 44	

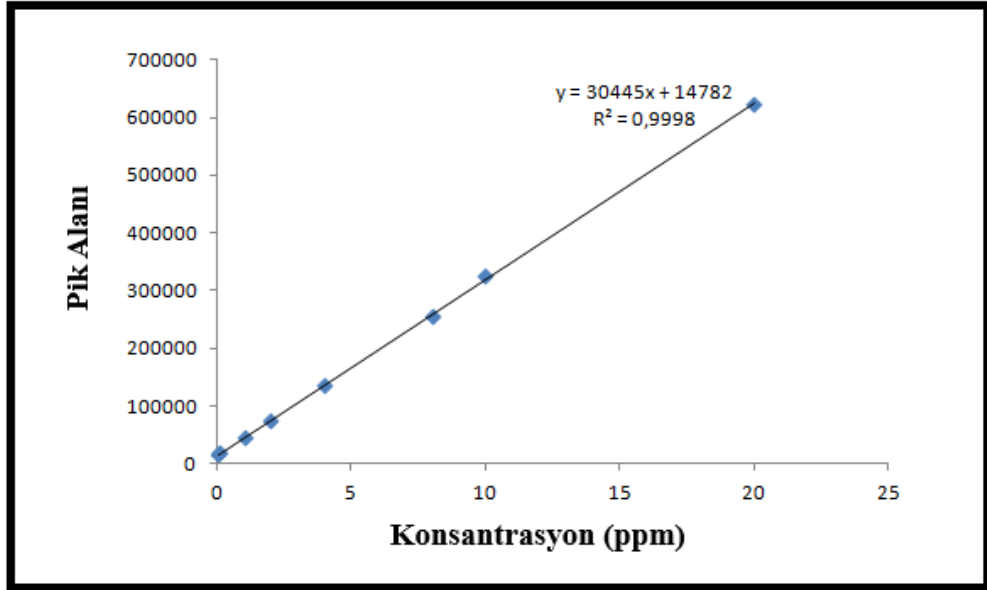
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. İncelenen Nitrozaminlere Ait Kalibrasyon Doğruları

N-nitrozodimetilamin için $0.05 - 200 \text{ mg L}^{-1}$ ve N-nitrozodietilamin için $0.05 - 20 \text{ mg L}^{-1}$ konsantrasyonları arasında oluşturulan kalibrasyon doğruları Şekil 4.1 ve 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. N-nitrozodimetilamine ait $0.05 - 200 \text{ mg L}^{-1}$ aralığındaki kalibrasyon doğrusu



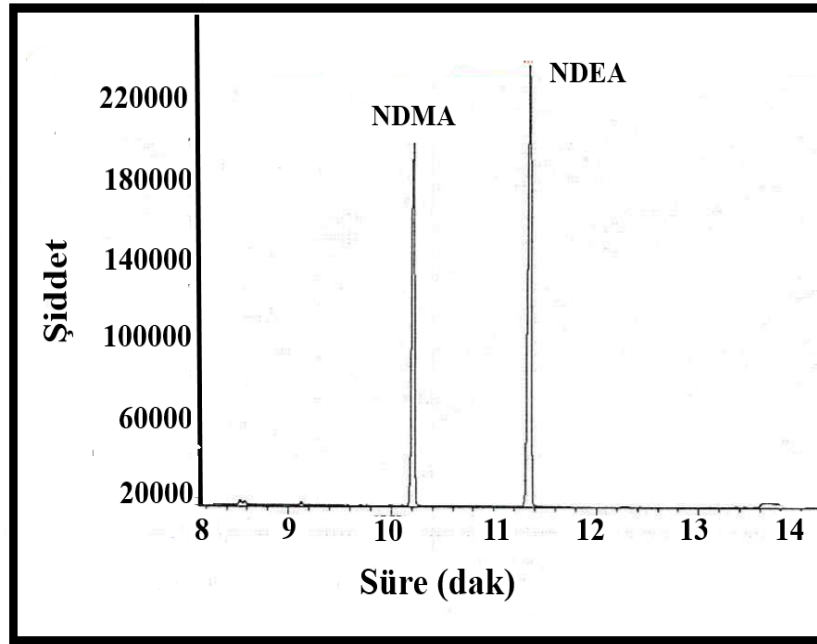
Şekil 4.2. N-nitrozodietilamine ait $0.05 - 20 \text{ mg L}^{-1}$ aralığındaki kalibrasyon doğrusu

4.2. İncelenen Nitrozaminlere Ait LOD, LOQ ve Alıkonma Süreleri

N-nitrozodimetil amin ve N-nitrozodietil amine ait LOD, LOQ değerleri ve alıkonma süreleri Çizelge 4.1’de verilmiştir. Materyal ve yöntem kısmında tanımlanan HSGCMS analiz koşullarında, hazırlanan standart çözeltiler kullanılarak gerçekleştirilen çalışmada N-nitrozodimetil aminin 10.1 dakikada, N-nitrozodietil aminin 11.3 dakikada geldiği belirlenmiştir. NDMA ve NDEA’ e ait pikler Şekil 4.3’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. N-nitrozodimetil amin ve N-nitrozodietil amine ait LOD, LOQ ve alıkonma süreleri

Nitrozamin	Alıkonma Süresi (dak)	LOD (mg L ⁻¹)	LOQ (mg L ⁻¹)
NDMA	10.1	0.004	0.013
NDEA	11.3	0.001	0.003



Şekil 4.3. NDMA ve NDEA’ e ait pikler

4.3. İlaç Örneklerinde Tespit Edilen Nitrozaminler ve Miktarları

İlaç örneklerinde tespit edilen N-nitrozodimetilamin ve N-nitrozodietilamin miktarları Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. İlaç örneklerinde tespit edilen N-nitrozodimetilamin ve N-nitrozodietilamin miktarları

İlacın Etkin Maddesi	NDMA (mg kg ⁻¹)	NDEA (mg kg ⁻¹)
Valsartan	18.28 ± 0.06	6.27 ± 0.02
Valsartan	3.43 ± 0.01	6.78 ± 0.02
Valsartan	27.83 ± 0.09	1.09 ± 0.01
Valsartan	34.14 ± 0.11	1.39 ± 0.01
Valsartan	8.00 ± 0.02	5.61 ± 0.02
Valsartan	6.40 ± 0.02	1.18 ± 0.01
Losartan	18.41 ± 0.06	11.13 ± 0.03
Losartan	53.49 ± 0.13	13.06 ± 0.03
Losartan	29.56 ± 0.10	2.96 ± 0.01
Losartan	67.05 ± 0.15	16.05 ± 0.05
İrbesartan	4.73 ± 0.01	1.94 ± 0.01
İrbesartan	24.25 ± 0.08	3.62 ± 0.01
İrbesartan	27.40 ± 0.09	5.88 ± 0.02
Telmisartan	1.71 ± 0.01	0.62 ± 0.01
Olmesartan	6.64 ± 0.02	20.13 ± 0.06
Olmesartan	1.80 ± 0.01	4.20 ± 0.01
Olmesartan	7.47 ± 0.02	1.53 ± 0.01
Kandesartan	16.14 ± 0.05	22.48 ± 0.06
Kandesartan	11.10 ± 0.03	13.21 ± 0.03
Kandesartan	31.73 ± 0.10	10.46 ± 0.03

Valsartan etkin maddesine sahip olan ilaçlarda ortalama NDMA konsantrasyonlarının 3.43 ile 34.14 mg kg⁻¹ arasında, ortalama NDEA konsantrasyonlarının 1.18 ile 6.78 mg kg⁻¹ arasında, losartan etkin maddesine sahip olan ilaçlarda ortalama NDMA içeriklerinin 18.41 ile 67.05 mg kg⁻¹ arasında, ortalama NDEA içeriklerinin 2.96 ile 16.05 mg kg⁻¹ arasında, irbesartan etkin maddesine sahip ilaçlarda

ortalama NDMA miktarlarının 4.73 ile 27.40 mg kg⁻¹ arasında, ortalama NDEA miktarlarının 1.94 ile 5.88 mg kg⁻¹ arasında, olmesartan etkin maddesine sahip ilaçlarda ortalama NDMA konsantrasyonlarının 1.80 ile 7.47 mg kg⁻¹ arasında, ortalama NDEA konsantrasyonlarının 1.53 ile 20.13 mg kg⁻¹ arasında, kandesartan etkin maddesine sahip ilaçlarda ortalama NDMA içeriklerinin 11.10 ile 31.73 mg kg⁻¹ arasında, ortalama NDEA içeriklerinin 10.46 ile 22.48 mg kg⁻¹ arasında olduğu tespit edilmiştir. Telmisartan etkin maddesine sahip olan ilaçta ortalama NDMA konsantrasyonunun 1.71 mg kg⁻¹, ortalama NDEA konsantrasyonunun ise 0.62 mg kg⁻¹ olduğu saptanmıştır.

En yüksek NDMA konsantrasyonlarına losartan etkin maddesine sahip ilaçlarda, en yüksek NDEA konsantrasyonlarına ise kandesartan ve olmesartan etkin maddesine sahip ilaçlarda rastlanmıştır. En düşük NDMA konsantrasyonlarına telmisartan ve olmesartan etkin maddesine sahip ilaçlarda, en düşük NDEA konsantrasyonlarına ise telmisartan ve valsartan etkin maddesine sahip ilaçlarda rastlanmıştır.

4.4. İlaç Örneklerinin Her Bir Tabletindeki Nitrozaminler ve Miktarları

İncelenen ilaç örneklerinin her bir tabletindeki N-nitrozodimetilamin ve N-nitrozodietilamin miktarları Çizelge 4.3’de verilmiştir. Valsartan etkin maddesine sahip ilaçların her bir tabletindeki NDMA miktarları $1.1 \cdot 10^{-3}$ ile $1.4 \cdot 10^{-2}$ mg arasında, NDEA miktarları $4.4 \cdot 10^{-4}$ ile $2.9 \cdot 10^{-3}$ mg arasında, losartan etkin maddesine sahip ilaçların her bir tabletindeki NDMA miktarları $6.9 \cdot 10^{-3}$ ile $1.7 \cdot 10^{-2}$ mg arasında, NDEA miktarları $6.9 \cdot 10^{-4}$ ile $5.1 \cdot 10^{-3}$ mg arasında, irbesartan etkin maddesine sahip ilaçların her bir tabletindeki NDMA miktarları $2.5 \cdot 10^{-3}$ ile $8.5 \cdot 10^{-3}$ mg arasında, NDEA miktarları $9.6 \cdot 10^{-4}$ ile $1.8 \cdot 10^{-3}$ mg arasında, olmesartan etkin maddesine sahip ilaçların her bir tabletindeki NDMA miktarları $3.6 \cdot 10^{-4}$ ile $2.9 \cdot 10^{-3}$ mg arasında, NDEA miktarları $3.3 \cdot 10^{-4}$ ile $8.8 \cdot 10^{-3}$ mg arasında, kandesartan etkin maddesine sahip ilaçların her bir tabletindeki NDMA miktarları $1.4 \cdot 10^{-3}$ ile $4.2 \cdot 10^{-3}$ mg arasında, NDEA miktarları $1.4 \cdot 10^{-3}$ ile $2.9 \cdot 10^{-3}$ mg arasında, telmisartan etkin maddesine sahip ilacın her bir tabletindeki NDMA miktarı $1.2 \cdot 10^{-3}$ olarak, NDEA miktarı $4.3 \cdot 10^{-4}$ olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.3. İncelenen ilaç örneklerinin her bir tabletindeki N-nitrozodimetilamin ve N-nitrozodietilamin miktarları

İlacın Etkin Maddesi	NDMA (mg/tablet)	NDEA (mg/tablet)
Valsartan	$6.5 \cdot 10^{-3}$	$2.2 \cdot 10^{-3}$
Valsartan	$1.1 \cdot 10^{-3}$	$2.2 \cdot 10^{-3}$
Valsartan	$1.4 \cdot 10^{-2}$	$5.3 \cdot 10^{-4}$
Valsartan	$1.1 \cdot 10^{-2}$	$4.4 \cdot 10^{-4}$
Valsartan	$4.2 \cdot 10^{-3}$	$2.9 \cdot 10^{-3}$
Valsartan	$3.2 \cdot 10^{-3}$	$5.8 \cdot 10^{-4}$
Losartan	$8.5 \cdot 10^{-3}$	$5.1 \cdot 10^{-3}$
Losartan	$1.7 \cdot 10^{-2}$	$4.1 \cdot 10^{-3}$
Losartan	$6.9 \cdot 10^{-3}$	$6.9 \cdot 10^{-4}$
Losartan	$1.2 \cdot 10^{-2}$	$2.9 \cdot 10^{-3}$
İrbesartan	$2.5 \cdot 10^{-3}$	$1.0 \cdot 10^{-3}$
İrbesartan	$6.4 \cdot 10^{-3}$	$9.6 \cdot 10^{-4}$
İrbesartan	$8.5 \cdot 10^{-3}$	$1.8 \cdot 10^{-3}$
Telmisartan	$1.2 \cdot 10^{-3}$	$4.3 \cdot 10^{-4}$
Olmesartan	$2.9 \cdot 10^{-3}$	$8.8 \cdot 10^{-3}$
Olmesartan	$3.6 \cdot 10^{-4}$	$8.5 \cdot 10^{-4}$
Olmesartan	$1.6 \cdot 10^{-3}$	$3.3 \cdot 10^{-4}$
Kandesartan	$2.1 \cdot 10^{-3}$	$2.9 \cdot 10^{-3}$
Kandesartan	$1.4 \cdot 10^{-3}$	$1.7 \cdot 10^{-3}$
Kandesartan	$4.2 \cdot 10^{-3}$	$1.4 \cdot 10^{-3}$

Çizelge 4.3 incelendiğinde, elde edilen değerlerin kabul edilebilir alım limitlerinin (NDMA için 96 ng/gün ve NDEA için 26.5 ng/gün) üzerinde oldukları görülmektedir.

4.5. Elde Edilen Değerlerin Literatürdeki Verilerle Karşılaştırılması

İncelenen örneklerde saptanan nitrozamin miktarlarını literatürdeki değerlerle karşılaştırmak amacıyla Çizelge 4.4 oluşturulmuştur.

Çizelge 4.4. İncelenen örneklerde saptanan nitrozamin miktarlarını literatürdeki değerlerle karşılaştırılması

İlacın Etkin Maddesi	NDMA (mg kg ⁻¹)	NDEA (mg kg ⁻¹)	Kaynak
Valsartan	3.43 – 34.14	1.09 – 6.78	Bu çalışma
Valsartan	0.004	----	Lim ve ark., 2020
Valsartan	0.10 – 137.60	0.07 – 6.90	Chang ve ark., 2020
Valsartan	0.06 – 99.79	0.11 – 8.84	Chang ve ark., 2021
Valsartan	17.57	----	Vogel ve Norwig, 2022
Valsartan	0.01518 – 59.3	----	Tarawneh ve ark., 2022
Losartan	18.41 – 67.05	2.96 – 16.05	Bu çalışma
Losartan	----	0.08 – 0.23	Chang ve ark., 2020
Losartan	----	0.07 – 0.20	Chang ve ark., 2021
İrbesartan	4.73 – 27.40	1.94 – 5.88	Bu çalışma
İrbesartan	----	0.11 – 0.12	Chang ve ark., 2020
İrbesartan	----	0.10 – 0.14	Chang ve ark., 2021

Çizelge 4.4 incelendiğinde, valsartan etkin maddesine sahip olan ilaçlar için elde ettiğimiz değerlerin literatürdeki değerlere yakın olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, losartan ve irbesartan etkin maddelerine sahip olan ilaçlar için elde ettiğimiz değerlerin literatürdeki çalışmalardan daha yüksek oldukları görülmektedir. İlaçlarda nitrozaminlerin oluşumuna katkıda bulunan birçok faktör bulunmaktadır. Kontamine başlangıç malzemeleri ve ara maddeler, reaktifler, çözücüler, katalizörler, üretim prosesinde yapılan hatalar, geri kazanılmış ve geri dönüştürülmüş malzemeler ve yeterli proses bilgisine sahip olmayan üreticiler bunların başında gelmektedir. Ayrıca, ilaçlar üretildikten sonra da saklama koşullarına, ambalaj malzemelerine ve aktif maddelerin bozunma süreçlerine bağlı olarak nitrozaminler oluşabilmektedir. Yurtdışında bütün bu faktörler göz önünde bulundurularak gerekli tedbirler alınmaya, üretim aşamalarında ve sonrasında sıkı kontroller yapılmaya başlanmıştır. Literatürdeki çalışmalarda incelenen

ilaçlarda bizim çalışmamıza kıyasla daha düşük konsantrasyonlarda nitrozamin tespit edilmesinin yukarıda belirtilen sebeplerden kaynaklandığı düşünülmektedir.



5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Haziran 2018’de Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), Çin’de valsartan etkin maddesine sahip bazı ilaçlarda genotoksik potansiyele sahip olabilecek N-nitrozodimetilamin safsızlığına rastlandığını duyurmuştur. Ardından sadece Çin’de değil tüm Avrupa Birliği ülkelerinde valsartan etkin maddesine sahip ilaçlar incelenmeye başlanmıştır. Araştırmalar tetrazol grubuna sahip losartan, irbesartan, kandesartan, olmesartan gibi tüm sartanlar için genişletilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda birçok ilaçta nitrozaminlerin varlığı tespit edilmiştir. 2019 yılında sartan içermeyen ranitidin içeren ilaçlarda da N-nitrozodimetilamin safsızlığının saptanması endişeleri iyice arttırmıştır. Yapılan incelemeler nitrozaminlerin hem ilaçların üretimleri sırasında hem de sonrasında saklama koşullarına bağlı olarak oluşabildiklerini göstermiştir. Kasım 2019’da Singapur hükümeti metformin etkin maddesine sahip ilaçlarda N-nitrozodimetilamin safsızlığına rastlandığını açıklamıştır. Ağustos 2022’de de Gıda ve İlaç İdaresi tip 2 diyabet hastalarında sıkça kullanılan sitagliptin içeren ilaçlarda nitrozaminlerin tespit edildiğini bildirmiştir. Bütün bu açıklamalardan sonra tüm dünyada ilaçların nitrozamin içerip içermediklerini belirlemek amacıyla çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Ancak ülkemizde bu konuda yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. İnsan sağlığını tehdit eden nitrozaminlerin hangi ilaçlarda hangi miktarlarda bulunduklarının bilinmesi son derece önemlidir.

Bu çalışma kapsamında, valsartan, losartan, irbesartan, telmisartan, olmesartan ve kandesartan etkin maddelerine sahip olan 20 adet ilacın içerdiği NDMA ve NDEA miktarları belirlenmiştir. Valsartan içeren ilaçlarda 16.35 mg kg^{-1} ortalama ile $3.43 - 34.14 \text{ mg kg}^{-1}$ arasında NDMA ve 3.72 mg kg^{-1} ortalama ile $1.18 - 6.78 \text{ mg kg}^{-1}$ arasında NDEA saptanmıştır. Losartan içeren ilaçlarda belirlenen NDMA konsantrasyonları 42.13 mg kg^{-1} ortalama ile $18.41 - 67.05 \text{ mg kg}^{-1}$ arasında, NDEA konsantrasyonları ise 10.80 mg kg^{-1} ortalama ile $2.96 - 16.05 \text{ mg kg}^{-1}$ arasındadır. İrbesartan içeren ilaçlarda 18.79 mg kg^{-1} ortalama ile $4.73 - 27.40 \text{ mg kg}^{-1}$ arasında NDMA ve 3.81 mg kg^{-1} ortalama ile $1.94 - 5.88 \text{ mg kg}^{-1}$ arasında NDEA tespit edilmiştir. Olmesartan içeren ilaçlarda belirlenen NDMA miktarları 5.30 mg kg^{-1} ortalama ile $1.80 - 7.47 \text{ mg kg}^{-1}$ arasında, NDEA miktarları ise 8.62 mg kg^{-1} ortalama ile $1.53 - 20.13 \text{ mg kg}^{-1}$ arasındadır. Kandesartan içeren ilaçlarda 19.66 mg kg^{-1} ortalama ile $11.10 - 31.73 \text{ mg kg}^{-1}$ arasında NDMA ve 15.38 mg kg^{-1}

ortalama ile 10.46 -22.48 mg kg⁻¹ arasında NDEA bulunmuştur. Telmisartan etkin maddesine sahip olan ilaçta ortalama NDMA konsantrasyonunun 1.71 mg kg⁻¹, ortalama NDEA konsantrasyonunun ise 0.62 mg kg⁻¹ olduğu saptanmıştır.

Ardından, incelenen ilaçların her bir tabletindeki NDMA ve NDEA miktarları hesaplanmıştır. Valsartan etkin maddesine sahip ilaçların her bir tabletindeki NDMA miktarları 1.1.10⁻³ ile 1.4.10⁻² mg arasında, NDEA miktarları 4.4.10⁻⁴ ile 2.9.10⁻³ mg arasında, losartan etkin maddesine sahip ilaçların her bir tabletindeki NDMA miktarları 6.9.10⁻³ ile 1.7.10⁻² mg arasında, NDEA miktarları 6.9.10⁻⁴ ile 5.1.10⁻³ mg arasında, irbesartan etkin maddesine sahip ilaçların her bir tabletindeki NDMA miktarları 2.5.10⁻³ ile 8.5.10⁻³ mg arasında, NDEA miktarları 9.6.10⁻⁴ ile 1.8.10⁻³ mg arasında, olmesartan etkin maddesine sahip ilaçların her bir tabletindeki NDMA miktarları 3.6.10⁻⁴ ile 2.9.10⁻³ mg arasında, NDEA miktarları 3.3.10⁻⁴ ile 8.8.10⁻³ mg arasında, kandesartan etkin maddesine sahip ilaçların her bir tabletindeki NDMA miktarları 1.4.10⁻³ ile 4.2.10⁻³ mg arasında, NDEA miktarları 1.4.10⁻³ ile 2.9.10⁻³ mg arasında, telmisartan etkin maddesine sahip ilacın her bir tabletindeki NDMA miktarı 1.2.10⁻³ olarak, NDEA miktarı 4.3.10⁻⁴ olarak saptanmıştır.

Elde edilen değerler literatürdeki verilerle karşılaştırıldığında valsartan etkin maddesine sahip ilaçlar açısından uyumlu oldukları, losartan ve irbesartan etkin maddelerine sahip olan ilaçlar için ise elde edilen değerlerin literatürdeki çalışmalardan daha yüksek oldukları görülmüştür. Literatürde telmisartan, olmesartan ve kandesartan etkin maddelerine sahip ilaçların NDMA ve NDEA içerikleriyle ilgili bilgi olmadığından karşılaştırma yapılamamıştır.

Günümüzde nitrozaminlerin mutajenik, kanserojenik ve teratojenik oldukları bilinmektedir. İnsan sağlığı açısından son derece zararlı olan nitrozaminlere önceleri sularda, işlem görmüş gıdalarda ve kozmetik ürünlerde rastlanırken, 2018 yılından sonra ilaçlarda da rastlanmaya başlanmıştır (Luo ve ark., 2022). Bu ilaçlar yüksek tansiyon ve tip 2 diyabet tedavilerinde kullanılan ilaçlar oldukları için, belli bir yaşın üzerindeki çok sayıdaki kişi tarafından kullanılmaktadırlar. Bu çalışma kapsamında incelenen sartan etkin maddesine sahip 20 adet ilacın yirmisinde de hem NDMA hem de NDEA tespit edilmiştir. Üstelik belirlenen her iki safsızlığın miktarları da kabul edilebilir limit değerlerinin üzerinde bulunmuştur. Önceden de bahsedildiği gibi bu safsızlıkların

oluşumuna katkıda bulunan çok sayıda faktör mevcuttur. Bu faktörlerin tespit edilmesi büyük önem taşımaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışma ile ülkemizde sıkça kullanılan bazı ilaçların içerdikleri NDMA ve NDEA safsızlıklarının miktarları belirlenmiştir. Böylece, ülkemizde kullanılan ilaçların da sağlık açısından son derece zararlı olduğu bilinen nitrozaminleri hangi oranda içerdiği ortaya konmuştur. Yurt dışında sadece sartan grubu ilaçlarda değil farklı etken maddelere sahip olan birçok ilaçta da nitrozaminlerin varlığına rastlandığı göz önüne alındığında benzer çalışmaların yapılması gerektiği aşikârdır. Bu bağlamda, gerçekleştirilen çalışmanın benzer çalışmaların yapılmasına ışık tutacağı ve bir örnek teşkil edeceği düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- Akyüz, G., Kadioğlu, E. L. A., 2023. Farmasötik Ürünler ve Ham Maddelerde N-Nitrozaminlerin Oluşum Mekanizması ve Toksisitesi: **Geleneksel Derleme. Literatür Eczacılık Bilimleri Dergisi.** 12(2), 171-182.
- Atan, M. M., 2010. Hatay bölgesinde tüketilen et ve süt ürünlerindeki zararlı anyonların belirlenmesi. **Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Hatay, 84 sayfa.**
- Abe, Y., Yamamoto, E., Yoshida, H., Usui, A., Tomita, N., Kanno, H., Masada, S., Yokoo, H., Tsuji, G., Uchiyama, N., Hakamatsuka, T., Demizu, Y., Izutsu, K., Goda, Y., Okuda, H., 2020. Temperature-dependent formation of N-Nitroso dimethylamine during the storage of ranitidine reagent powders and tablets. **Chem. Pharm. Bull.** 68, 1008–1012.
- Campillo, N., Vinas, P., Martínez - Castillo, N., Hernández - Córdoba, M., 2021. Determination of volatile nitrosamines in meat products by microwave-assisted extraction and dispersive liquidliquid microextraction coupled to gas chromatographymass spectrometry. **Journal of Chromatography A.** 1218 (14), 1815–1821.
- Cemek, M., Akkaya, L., Birdane, Y.O., Seyrek, K., Bulut, S., Konuk, M., 2007. Nitrate and nitrite levels in fruity and natural mineral waters marketed in western Turkey. **Journal of Food Composition and Analysis.** 20, 236-240.
- Chang, S. H., Chang, C.C., Wang, L. J., Chen, W. C., Fan, S. Y., Zang, C.Z., Hsu, Y.H., Lin, M.C., Tseng, S.H., Wang, D.Y., 2020. A multi-analyte LC-MS/MS method for screening and quantification of nitrosamines in sartans. **J. Food Drug. Anal.** 28(2), 292-301.
- Chang, S. H., Ho, H. Y., Zang, C. Z., Hsu, Y. H., Lin, M. C., Tseng, S. H., Wang, D. Y., 2021. Screening of nitrosamine impurities in sartan pharmaceuticals by GC-MS / MS. **Mass Spectrometry Letters.** 12(2), 31-40.
- De Mey, E., De Klerck, K., De Maere, H., Dewulf, L., Derdelinckx, G., Peeters, M. C., Paelinck, H., 2014. The occurrence of N-nitrosamines, residual nitrite and biogenic amines in commercial dry fermented sausages and evaluation of their occasional relation. **Meat Science.** 96(2), 821-828.
- Doshi, C., Malayandi, R., Namjoshi, G., Kadam, P., Mule, D., 2021. Nitrosodimethyl amine impurities in metformin drug products: Physician insight. **Journal of Diabetology.** 12(2), 120-127.
- EPA, 2016. Environmental Protection Agency. Six- Year Review 3 Technical Support Document for Nitrosamines. <https://www.epa.gov/sites/production/files/201612/documents/810r16009.pdf>. (Erişim tarihi: 27/12/2019).
- Honikel, K. O., 2008. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. **Meat science.** 78(1-2), 68-76.
- Horsch, A. M., 2013. The effect of pH and nitrite concentration on the antimicrobial impact of celery juice compared with sodium nitrite on *Listeria monocytogenes* **Iowa State University, Meat Science, Yüksek Lisans Tezi, Iowa, 66 sayfa.**

- HSDB, 2009. Hazardous Substances Data Bank. National Library of Medicine. <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB> and search on CAS number. (Erişim tarihi: 06/04/2009).
- IARC, 1987. N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG). In Overall Evaluations of Carcinogenicity. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, suppl. 7. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. pp. 248-250.
- Keire, D.A., Bream, R., Wollein, U., Schmalzer-Ripcke, J., Burchardt, A., Conti, M., Zmysłowski, A., Keizers, P., Morin, J., Poh, J., George, M., Wierer, M., 2022. International regulatory collaboration on the analysis of nitrosamines in metformin-containing medicines. **AAPS J.** 24(3), 56.
- Lag, M., 2011. Health effects of amines and derivatives associated with CO₂ capture. **The Norwegian Institute of Public Health**, 45.
- Lim, H. H., Oh, Y. S., Shin, H.S., 2020. Determination of N-nitrosodimethylamine in drug substances and products of sartans, metformin and ranitidine by precipitation and solid phase extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry. **J Pharm Biomed Anal.** 189, 113460.
- Liu, J., Zhao, Z., Yang, X., Jin, Y., Liu, X., Wang, C., Zhang, Z., 2021. Determination of N-nitrosodimethylamine in ranitidine dosage forms by ESI-LC-MS/MS; applications for routine laboratory testing. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR.** 20(4), 255.
- Luo, F., Liu, Y., Xie, Y., Hou, W., Zhang, L., Zhang, Z., 2022. Simultaneous determination of 13 nitrosamine impurities in biological medicines using salting-out liquid-liquid extraction coupled with liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.** 218, 114867.
- Mavis, M. E., Gursu, G. G., Cagatay, N. U., 2023. Development of a sensitive LC-APCI-MS/MS method for simultaneous determination of eleven nitrosamines in valsartan and irbesartan with a simple extraction approach. **Journal of Chromatography B.** 1216, 123593.
- O'boyle, A.R., Rubin, L. J., Diosady, L. L., Aladin-Kassam, N., Comer, F., Brightwell, W., 1990. A nitrite free curing system and its application to the production of wieners. **Food Technology.** 44(5), 88-104.
- Özbay, S., Sireli, U. T., Filazi, A., 2019. Nitrosamines, their chemistries and effects on health. **Int J Sci Technol Res.** 5(4), 124-133.
- Özbay, S. (2020). Sosis üretiminde uçucu N-nitrozaminlerin oluşumunun araştırılması. Ankara Üniversitesi Doktora Tezi.
- Özdestan, Ö., Ali, Ü. (2010). Gıdalarda nitrat ve nitrit. **Akademik Gıda**, 8(6), 35-43.
- Sağırlı, O., 2017. Validasyon. İstanbul Üniversitesi Ders Notları.
- Skovgaard, N., 1992. Microbiological aspects and technological need: Technological needs for nitrates and nitrites. **Food Additives and Contaminants.** 9(5), 391-397.
- Tarawneh, I. N., SHMEIS, R. A., Alfuqaha, S. M., Al Omari, M. M., 2022. Determination of N-nitrosodimethyl amine impurity in valsartan by HPLC

- and LC-MS/MS methods. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**. 50(11), 100150.
- Tay, K. S. J., Breadmore, M. C., Soh, E. S., See, H. H., 2022. Development of dispersive inclusion complex microextraction for the analysis of nitrosamines in medicinal products. **Journal of Chromatography A**. 1685, 463605.
- Tricker, A. R., Ditrich, C., Preussmann, R., 1991. N-Nitroso compounds in cigarette tobacco and their occurrence in mainstream tobacco smoke. **Carcinogenesis**. 12(2), 257-261.
- Tsutsumi, T., Akiyama, H., Demizu, Y., Uchiyama, N., Masada, S., Tsuji, G., Arai, R., Abe Y, Hakamatsuka, T., Izutsu, K., Goda, Y., Okuda, H., 2019. Analysis of an impurity, N-nitrosodimethylamine, in valsartan drug substances and associated products using GC-MS. **Biol Pharm Bull**. 42, 547-551.
- Vogel, M., Norwig, J., 2022. Analysis of genotoxic N-nitrosamines in active pharmaceutical ingredients and market authorized products in low abundance by means of liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. 219, 114910.
- Vural, H., Öztan, A., 1992. Fermente et ürünlerinde nitrosomyoglobin oluşumu ve etkileyen faktörler. **Gıda**. 17(3), 191-196.
- Xiao, Y., Li, P., Zhou, Y., Ma, F., Chen, C., 2018. Effect of inoculating *Lactobacillus pentosus* R3 on N-nitrosamines and bacterial communities in dry fermented sausages. **Food Control**. 87, 126-134.
- Yuan, Y., Meng, W., Yutian, M., Fang, C., Xiaosong, H., 2015. Determination of Eight Volatile Nitrosamines in Meat Products by Ultrasonic Solvent Extraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry Method. **International Journal of Food Properties**. 18(6), 1181-1190.
- Zhang, J., Selaya, S. D., Shakleya, D., Mohammad, A., Faustino, P. J., 2023. Rapid quantitation of four nitrosamine impurities in angiotensin receptor blocker drug substances. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. 112(5), 1246-1254.
- Zmysłowski, A., Książek, I., Szterk, A., 2020. N-nitrosodimethylamine contamination in the metformin finished products. **Molecules**. 25(22), 5304.