

Quantitative determination of the iron chelating agent Deferaserux and one of its process-related substance by using high performance liquid chromatography

Dr. Mohammad Haroun*

(Received 6 / 4 / 2023. Accepted 15 / 5 / 2023)

□ ABSTRACT □

Deferasirox is an iron-chelating agent indicated in the treatment of chronic iron overload. This work aims to develop a new validated sensitive RP-HPLC coupled with a UV detector for the determination of Deferasirox and one of the unstudied impurities. The separation was achieved on the Kromosil C₈ column (length of 250 mm, internal diameter of 4.0 mm, and 5- μ m particle size) at a temperature of 25°C. Phosphate Buffer and acetonitrile were used as a mobile phase by isocratic mode at a 0.8 mL/min flow rate. A wavelength of 254 nm was selected to perform detection using a photodiode array detector. The method met the requirement of the International Conference on Harmonisation requirement for validation for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). The limit of detection (LOD) for Deferasirox was found to be 5.59 ng/mL and 8.35 ng/mL for the impurity DRS-1. The developed method was then tested by analyzing some samples of active pharmaceutical ingredients. The Impurity DRS-1 exceeded the impurities' acceptable limits (0.1%) in one of these samples.

Keywords: Deferasirox, impurity Profile, chelating, iron, RP-HPLC

Copyright



:Tishreen University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

*Assistant Professor – department of pharmaceutical chemistry and drugs quality control - Faculty of Pharmacy –Tishreen University- Lattakia- Syria.

التعيين الكمي لمخلب شوارد الحديد ديفيراسيروكس وأحد شوائبه ذات العلاقة بالبنية باستخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء

د. محمد هارون*

(تاريخ الإيداع 6 / 4 / 2023. قبل للنشر في 15 / 5 / 2023)

□ ملخص □

ديفيراسيروكس هو عامل مخلب لشوارد الحديد يستطب لعلاج فرط الحديد المزمن. يهدف هذا العمل لتطوير والتحقق من مصدوقية طريقة جديدة وحساسة من نمط الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء ذات الطور العكوس والمقترنة بمكشاف الامتصاص وذلك لتحديد ديفيراسيروكس وأحد شوائبه غير المدروسة. أجري الفصل على عمود Kromosil C₈ ذي الطول 250 مم والقطر داخلي 4.0 مم، وأبعاد الأجزاء 5 ميكروميتر وبدرجة حرارة للعمود 25 درجة مئوية. استخدم الوقاء الفوسفاتي والأسيتونيتريل كطور متحرك وفق النمط المتساير وبمعدل تدفق 0.8 مل/ دقيقة. تم الكشف بطول موجة 254 نانومتر وذلك باستخدام كاشف PDA. استوفت الطريقة متطلبات المؤتمر الدولي للمعاملة (ICH) للتحقق من مصدوقيتها. تم الحصول على القيم المقبولة للخطية والانتقائية والدقة والمناطة للطريقة المطورة، كما بلغ حد الكشف بالنسبة لديفيراسيروكس (5.59 ng/mL) و (8.05 ng/mL) بالنسبة للشائبة المدروسة DRS-1. تم اختبار الطريقة المطورة على عدة عينات من المادة الفعالة، ووجدت الشائبة DRS-1 بتركيز أعلى من عتبة التبليغ 0.1% في إحدى عينات المادة الفعالة.

الكلمات المفتاحية: ديفيراسيروكس، مرتسم الشوائب، مخلب، شوارد الحديد، الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء ذات الطور العكوس.

حقوق النشر : مجلة جامعة تشرين- سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص



CC BY-NC-SA 04

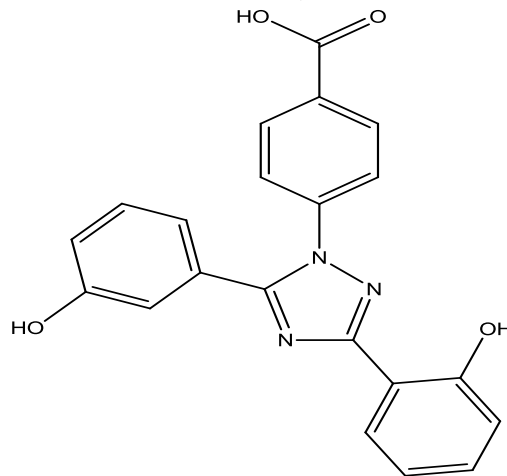
* أستاذ مساعد - كلية الصيدلة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

مقدمة

يعتبر Deferasirox عامل مخلب للحديد يستطب لعلاج فرط الحديد المزمن عند مرضى عمليات نقل الدم على المدى الطويل لحالات مثل فقر الدم المنجلي (الثلاسيميا بيتا) وفقر الدم المزمن الأخرى [1-2]، وهو يمتلك الاسم الكيميائي والصيغة الموضحة في الشكل رقم (1). إن Deferasirox مستخلب جديد لشوارد الحديد منح الترخيص من قبل إدارة الغذاء والدواء الأمريكية Food and Drug Administration FDA في العام 2013 كأول دواء فموي يستخدم لهذا الغرض [3]. حيث يعمل هذا الدواء على ربط الحديد ثلاثي التكافؤ مكوناً معه مركباً مستقراً ليسهل التخلص منه عبر الكلية [4].

يعتبر ضمان فاعلية ومأمونية الأدوية الهدف الأساسي للتشريعات الصحية الدولية [5-6]، ولبلوغ هذا الهدف يجب تحديد المواد غير المرغوبة والتي تسمى بالشوائب Impurities بشكل كيميائي وكمي والتي قد تكون معروفة الهوية Identified أو غير معروفة Unidentified. صنفت الدلائل الإرشادية الشوائب إلى ثلاثة أصناف رئيسية وهي الشوائب العضوية والشوائب غير العضوية وبقايا المذيبات [7-8]. يسمى المجهود التحليلي لتعيين محتوى المواد الدوائية الفعالة والأشكال الصيدلانية من هذه الشوائب بمرتسم الشوائب. تختلف مرتسمات الشوائب كميّاً وكيميّاً للمادة نفسها الموردة من مصادر مختلفة باختلاف عوامل عدة، مثل: مصدر المواد الأولية وطريقة التصنيع وعمليات التنقية وشروط الحفظ وعمليات التعبئة وعمليات الصياغة [9].

تناولت القليل من الدراسات تحليل شوائب هذا المركب فقد نُشرت دراسة لتعيين بقايا حمض الصفصاف Salicylic Acid و ساليساميد Salicylamide في مادة ديفيراسيروكس باستخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء ذات الطور العكوس [10] واستخدمت الطريقة عمود Inertsil ODS-3V: 150 X 4.6 mm; 5 µm وطول موجة 245 nm للكشف [10]، كما نشرت لتعيين ديفيراسيروكس في السوائل البيولوجية باستخدام طرائق استشرابية [11]، كما نُشرت دراسات لتطوير طرائق تحليلية مؤشرة للثبات لمادة ديفيراسيروكس [12-13]، ونشرت أيضاً دراسة لعزل واستعراف شائبة جديدة في مادة ديفيراسيروكس باستخدام تقنية LC-MS/MS [14].



4-(3-(2-hydroxyphenyl)-5-(3-hydroxyphenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)benzoic acid

Chemical Formula: C₂₁H₁₅N₃O₄

Molecular Weight: 373.3615

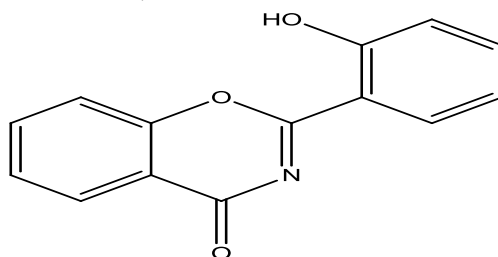
الشكل (1) الصيغة الكيميائية المنشورة لديفيراسيروكس Deferasirox

هدف البحث:

يهدف هذا البحث إلى تطوير طريقة تحليلية للتعين الكمي لشوائب جديدة غير مدروسة من قبل لمادة ديفيراسيروكس كمادة أولية خام. ومراقبة محتوى هذه الشوائب في المواد محلياً وخاصة أن هذا المركب غير مدرج حتى هذه اللحظة في أحدث اللوائح الدستورية.

طرائق البحث ومواده**الكواشف:**

تم شراء عياري مرجعي Deferasirox من شركة Amara Private Limited بنقاوة 99.99% وعياري الشائبة DRS-1 من شركة Amara Private Limited بنقاوة 98.85% والذي يمتلك البنية الكيميائية المبينة في الشكل رقم (2) ويستخدم كمادة أولية في تصنيع Deferasirox. كما استخدمت محلات عضوية أسيتونتريل Acetonitrile بنقاوة 99.5% HPLC إنتاج Sigma Aldrich ألمانيا، وأورثوفوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين Potassium dihydrogen orthophosphate إنتاج شركة Merck ألمانيا. حمض Orthophosphoric Acid إنتاج شركة Sigma Aldrich، وتم الحصول على الماء ثنائي التقطير خاص بـ HPLC باستخدام جهاز Simenens Water Technologies. كما تم تقديم المواد الأولية الفعالة ديفيراسيروكس كهدية من إحدى الشركات المحلية.



2-(2-hydroxyphenyl)-4H-benzo[e][1,3]oxazin-4-one
Chemical Formula: C₁₄H₉NO₃
Molecular Weight: 239.2262

الشكل (2) الصيغة الكيميائية للشائبة DRS-1

التجهيزات:

تم إجراء التحاليل باستعمال جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC ماركة Shimadzu (اليابان) مزود بمكشاف Photodiode array PDA (اليابان) والموجود في مختبرات شركة زين للصناعات الدوائية. استعمل العمود Kromasil C₈ طوله 250 ملم وقطر داخلي 4.0 ملم وأبعاد أجزاء الطور الداخلي 5.0 ميكرومتر، وميزان Sartorius بدقة 0.0001 mg ±، وجهاز pH من شركة Sartorius نموذج PB11 مزود بمسرى زجاجي، وماصة آلية Micropipette ألمانية الصنع من نوع Eppendorf سعتها العظمى 1000 µL ويمكن التحكم بحجمها عن طريق معدلة الحجم، وجهاز الأمواج فوق الصوتية Ultrasonic إنتاج Jeken Digital. تم تحليل العينات باستعمال برنامج جهاز الكروماتوغرافيا السائلة Empower.

التجربة:

الشروط الاستشرابية الخاصة بـ RP-HPLC:

جرى عزل الشوائب باستخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC. وذلك على عمود Kromasil C₈ بدرجة حرارة 25 °C. تألف الطور المتحرك المستعمل من 1000 حجم من وقاء أحادي الفوسفات محضر بإضافة 7.1 g في 1000 mL من الماء وضبطت حموضة المحلول باستعمال حمض Orthophosphoric Acid حتى القيمة pH = 3.0 و 815 حجم من أسيتونتريل. رُشح الطور المتحرك باستعمال مرشح 0.45 µm ونزعت الغازات باستعمال جهاز Ultrasonic. حجم الحقنة المستعمل 10 µL تم تطبيق تدفق مقداره 0.8 mL/min وفق النمط المتساير Isocratic وأجري الكشف باستخدام كاشف Photo Diode Array PDA عند طول موجة 254 nm.

تحضير المحاليل الخاصة بـ RP-HPLC

محلول التمديد (الناصح) Diluent:

مزيج من الأسيتونتريل والماء بنسبة (30:70 ح/ح).

المحاليل المعيارية الأم ومحاليل العمل

تم وزن 20 mg من معياري Deferasirox في بالون معاير سعة 100 mL، ثم تم حلّه بأقل كمية من محلول التمديد وتم التأكد من التجانس وتام الذوبان باستخدام حوض الأمواج فوق الصوتية، ثم أكمل الحجم حتى خط العيار ليكون تركيز المحلول المعياري (200 ppm) لتحضير محلول العمل بتركيز (100 ppm) تم بدقة نقل حجم 5 mL من العياري الأم إلى بالون حجمي سعة 10 mL ثم أكمل الحجم حتى خط العيار باستخدام محلول التمديد. حضرت المحاليل المعيارية ومحاليل العمل للعينة التجارية والعينة المشوبة باتباع الخطوات ذاتها المستخدمة في تحضير المحلول المعياري. كما تم تحضير محلول أم لـ DRS-1 بتركيز (20 ppm) ومحلول عمل بتركيز (10 ppm).

ملاءمة النظام System suitability:

تم إجراء حقنة واحدة لمحلول الناصح و5 مكررات من المحلول العياري بتركيز 100 ppm وحساب الانحراف المعياري النسبي RSD% للمساحات تحت القمم المسجلة ولأزمنة الاحتباس كما تم احتساب معامل التذييل Tailing Factor وتم حساب عدد الصفائح النظرية Theoretical Platelets Number N.

دراسات التحقق من مصدوقية الطريقة Validation:

تم التثبت من مصدوقية الطريقة المتبعة كما هو معتمد في دليل المؤتمر الدولي للمواءمة ICH [15-16]، وتم دراسة المتثابرات التالية:

الخطية Linearity، النوعية Specificity، حد الكشف LOD Limit on Detection، حد الكم Limit on Intermediate Quantification LOQ، الصحة Accuracy، التكرارية Repeatability، الدقة المتوسطة Intermediate Precision، والمتانة Robustness.

الخطية: لدراسة الخطية جرى تحضير محاليل مشتركة من المحلول المعياري الأم لـ Deferasirox مع الشائبة DRS-1، حيث جرى التمديد بمحلول التمديد. ويوضح الجدول رقم (1) طريقة تحضير محاليل الخطية والتراكيز المدروسة لـ Deferasirox و DRS-1.

الجدول (1) تحضير محاليل دراسة الخطية

تركيز DRS-1 ppm	تركيز Deferasirox ppm	الحجم النهائي	الحجم المضاف من العياري المشترك	مستوى الخطية
5	50	10 mL	0.5 mL	50 %
8	80	10 mL	0.8 mL	80%
10	100	10 mL	1.0 mL	100%
12	120	10 mL	1.2 mL	120%
15	150	10 mL	1.5 mL	150%

المضبوطة

حضرت 9 عينات تقسم إلى ثلاث مجموعات تحوي على التالي 50% و 100% و 150% من Deferasirox و DRS-1 أي (Deferasirox /DRS-1 50/5,100/10,150/15 ppm) وحسبت النسبة المئوية للإستعادة Recovery.

الدقة

جرى تحري تكرارية الطريقة Repeatability من خلال إجراء 6 مكررات لمحلل العياري المشترك الحاوي على Deferasirox بتركيز (100 ppm) و DRS-1 بتركيز (10 ppm) ومن ثم حساب الانحراف المعياري النسبي %RSD Relative Standard Deviation لمساحات القمم وأزمنة الاحتباس، بينما جرى تقييم الدقة الوسطى للطريقة التحليلية Intermediate precision من خلال تطبيق الطريقة نفسها في المختبر نفسه على الجهاز نفسه ولكن في أيام مختلفة ومن قبل محللين مختلفين.

المتانة

تم تحليل ثلاث عينات من العياري المشترك Deferasirox والشائبة DRS-1، ثم جرى حقنها بعد تعديل معدل التدفق إلى 0.7 mL/min و 0.9 ml/min مع بقاء جميع الشروط الأخرى ثابتة كما ذكر سابقاً في الشروط الاستشرايية. كما جرى تحليل ثلاث عينات من العياري المشترك بعد تعديل درجة الحرارة إلى 20°C و 30°C مع بقاء جميع الشروط الاستشرايية الأخرى ثابتة.

حد الكشف وحد القياس الكمي

تم تحديدها بطريقة نسبة الإشارة إلى الضجيج s/n Signal/Noise 3:1 و 10:1 لكل منهما على الترتيب.

النوعية

تم قياس قدرة الطريقة على تحديد المادة المدروسة بوجود الشوائب والمركبات قريبة البنية (مثل DRS-1) وذلك عبر إجراء حقنة واحدة للمحلل الناصع والمحلل العياري ل Deferasirox والمحلل العياري ل DRS-1 ومحلل العياري المشترك وتم حساب معامل الفصل (الميز Resolution Rs) بين القمم.

النتائج والمناقشة:

تم التحقق من مصدوقية الطريقة التحليلية المتبعة قبل تحليل العينات التجارية وتضمنت النتائج ما يلي:
ملاءمة النظام:

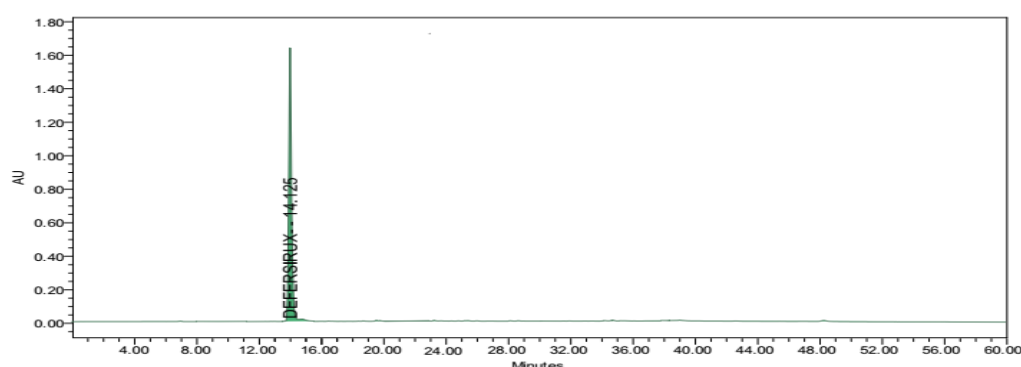
وجد أن عامل التذييل Deferasirox و DRS-1 كان أقل من 1.2، وكان الميز أكبر من 2.0، كما وجد أن عدد الصفائح النظرية لكلا المادتين كان أكثر من 10000. يبين الجدول رقم (3) نتائج التحقق من ملاءمة النظام.

الجدول رقم (1) نتائج التحقق من ملاءمة النظام لكل من DRS-1 و Deferasirox

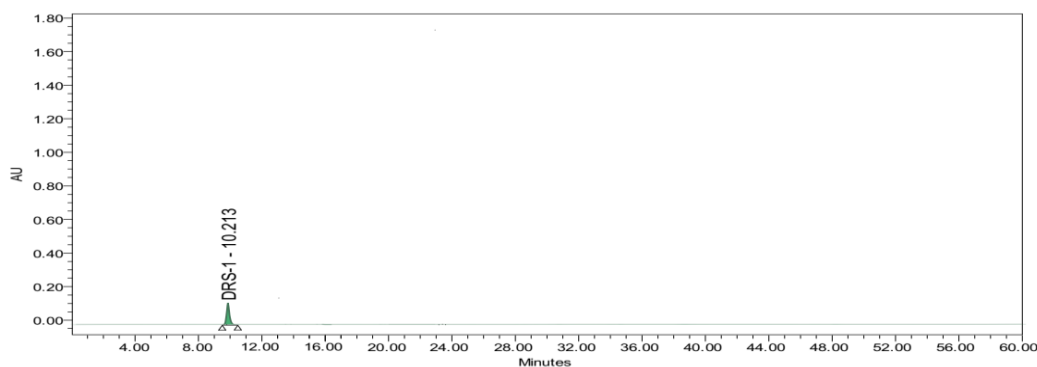
اسم المركب	زمن الاحتباس RT(min)	الميز Resolution	عامل التذييل Tailing factor	عدد الصفائح النظرية Theoretical plates (N)
DRS-1	10.21	-	1.020	12511
Deferasirox	14.11	5.21	0.869	211365

النوعية:

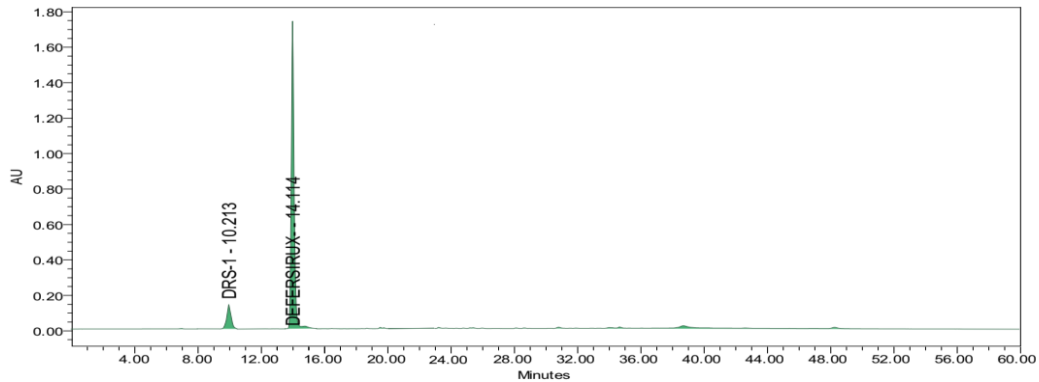
سمحت الطريقة التحليلية بفصل جيد لـ Deferasirox عن الشائبة DRS-1 كما لم يلاحظ أي تداخل بين قمم المادة الفعالة (زمن احتباس 14.11 دقيقة) و DRS-1 (زمن احتباس 10.15 دقيقة) وقم المذيب حيث كانت قيم الميز R أكبر من 1.5. توضح الأشكال رقم (3-5) المخططات الاستشرابية لمحلول عياري Deferasirox ومحلول عياري الشائبة DRS-1 والمحلول العياري المشترك.



الشكل (3) المخطط الاستشرابي لعياري Deferasirox



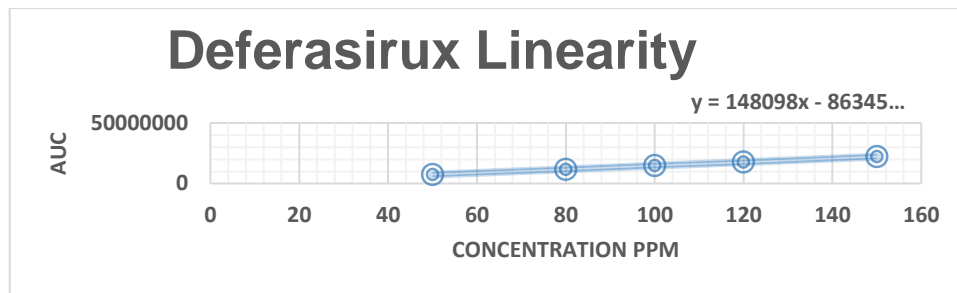
الشكل (4) المخطط الاستشرابي لعياري الشائبة DRS-1



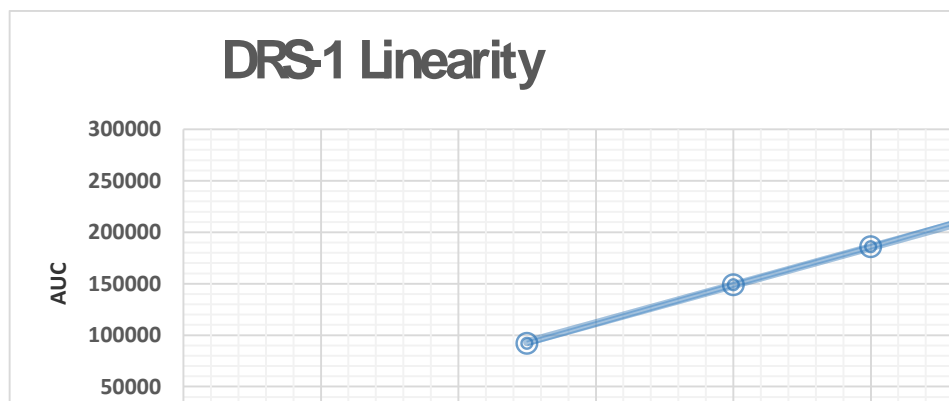
الشكل (5) المخطط الاستشرابي للعياري المشترك

الخطية:

جرى اختبار خطية منحنى المقايسة من خلال دراسة معامل الارتباط R^2 Correlation Factor بين التراكيز والاستجابة لكل تركيز (مساحة القمة AUC) ضمن المجال المدروس، فكان معامل الارتباط أكبر من 0.999 لكل من Deferasirox والشائبة DRS-1، وتم حساب معادلة الارتداد الخطي كما يوضح الشكلين رقم (6-7).



الشكل (6) منحنى الاستجابة الخطية لـ Deferasirox مع قيم R^2 ومعادلة الارتداد الخطي



الشكل (7) منحنى الاستجابة الخطية للشائبة DRS-1 مع R^2 ومعادلة الارتداد الخطي

نتائج دراسة المضبوطية والدقة

جرى تقييم المضبوطية من خلال النسبة المئوية للاستعادة حيث كانت القيم عند كل المستويات المدروسة بين (85%-115%)، كما أن الانحراف المعياري النسبي %RSD لكل من الانتقائية والتكرارية والدقة الوسطى والمتانة كان أقل من 2%. ويلخص الجدول رقم (3) النتائج التي حُصل عليها.

الجدول رقم (2) ملخص دراسات التحقق من المصدوقية

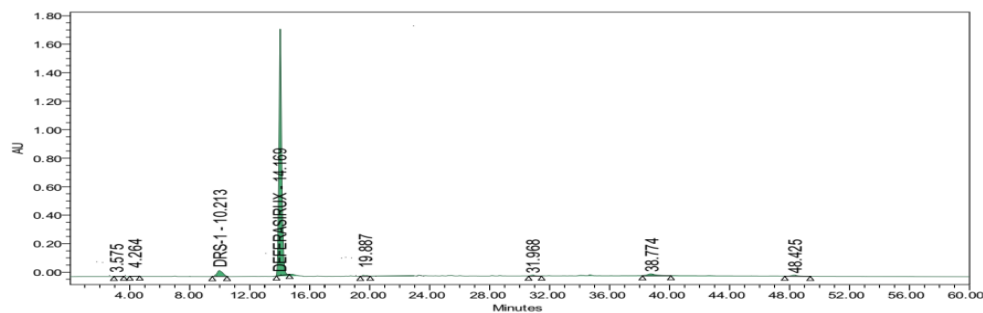
DRS-1	Deferasirox	المتنابت	
10.21	14.11	زمن الاحتباس RT (دقيقة)	
185881	14799467	مساحة القمة	
1.03	1.00	زمن الاحتباس النسبي RRT	
99.56	101.20	الاسترداد (80%)	
99.60	103.35	الاسترداد (100%)	
102.41	102.63	الاسترداد (120%)	
99.79	102.39	متوسط الاسترداد	
± 0.55	± 2.08	± SD	
0.63	0.76	RSD (Peak area)	
0.04	0.03	RSD (RT)	
99.67	101.21	Recovery %	
1.05	0.99	RSD (Peak area)	
1.75	RRT		0.7 mL/min
1.21	0.85	RSD**	
1.80	RRT		0.9 mL/min
1.05	1.10	RSD	
1.03	RRT		30°C
1.11	0.84	RSD	
1.03	RRT		20°C
1.01	0.91	RSD	
8.05 ng/mL	5.59 ng/mL	حد الكشف (LOD)	
26.565 ng/mL	18.447 ng/mL	حد الكشف (LOQ)	

تحليل العينات التجارية

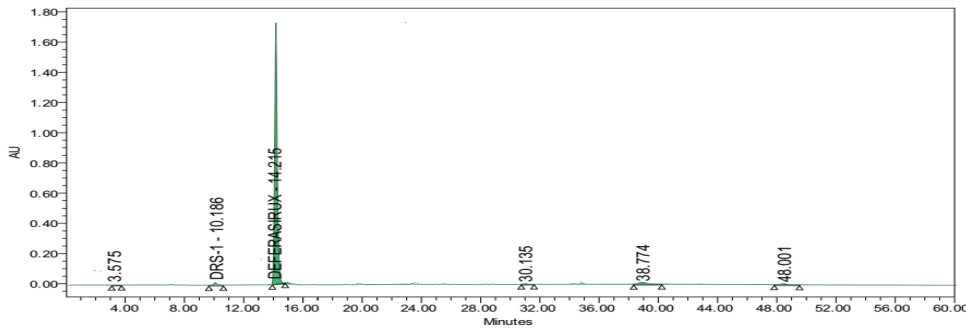
تم اختبار الطريقة المطوّرة في تحليل عينات تجارية لمادة Deferasirox من ثلاثة مصادر مختلفة تم ترميزها بـ Raw (1-3)، تم العثور على الشائبة DRS-1 في جميع العينات بنسبة مقبولة دون 0.1% ما عدا العينة Raw 1 كان تركيز الشائبة أكبر من 0.1%. كما تم العثور على شوائب أخرى تمت تسميتها بـ Imp (n) حيث تشير n إلى ترتيب ظهورها على المخطط الاستشرابي وكانت جميعها دون حد الكشف 0.1%. ويوضح الجدول رقم (3) نتائج تحليل العينات التجارية، بينما توضح الأشكال رقم (8-10) المخططات الاستشرابية للعينات المختبرة.

الجدول رقم (3) نتائج تحليل العينات التجارية

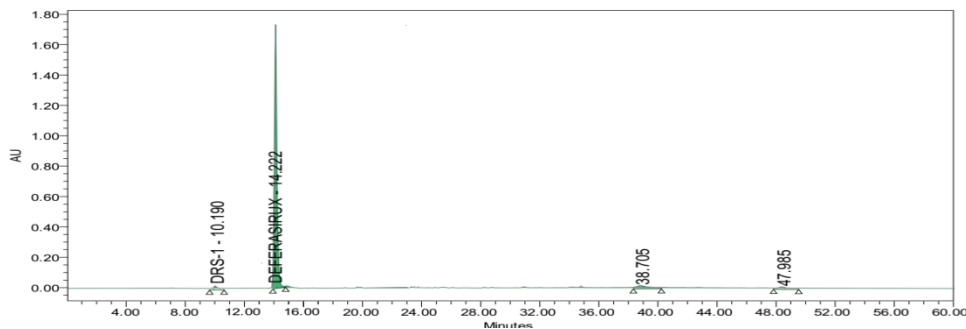
النسبة المئوية للقيمة المكتشفة			زمن الاحتباس (دقيقة)	اسم القمة
Raw 3	Raw 2	Raw 1		
لم تكتشف	0.021	0.002	3.575	Imp 1
لم تكتشف	لم تكتشف	0.023	4.264	Imp 2
0.051	0.068	0.140	10.213	DRS-1
98.881	99.12	98.56	14.116	Deferasirox
0.014	0.026	0.019	19.887	Imp 4
0.022	0.031	0.024	30.135	Imp 5
0.021	0.04	0.022	31.968	Imp 6
0.011	0.125	0.031	38.774	Imp 7
0.017	0.030	0.016	48.425	Imp 8



الشكل (8) المخطط الاستشرابي للعيينة التجارية الأولى Raw 1



الشكل (9) المخطط الاستشرابي للعينه التجارية الثانية Raw 2



الشكل (10) المخطط الاستشرابي للعينه التجارية الثالثة Raw 3

الاستنتاجات والتوصيات:

إن لتعيين مرتسم الشوائب أهمية متزايدة وخاصة للمواد ذات الاستخدام طويل الأمد، حيث تتراكم الشوائب المرافقة للمادة الفعالة ضمن خلايا الجسم مما قد يؤدي لحدوث تأثيرات ضائرة أو سمية، ولهذا فقد تم في هذا البحث تطوير طريقة جديدة من نمط RP-HPLC والتحقق من مصدوقيتها لتعيين مرتسم شوائب مادة ديفيراسيروكس باستخدام شائبة جديدة غير مذكورة في الدراسات المنشورة، وتمتعت الطريقة المطورة بالدقة والنوعية والحساسية العالية حيث بلغ حد الكشف بالنسبة لديفيراسيروكس (5.59 ng/mL) و (8.05 ng/mL) بالنسبة للشائبة المدروسة، كما تمكنت من تحديد محتوى الشائبة المدروسة في عدد من عينات المادة الفعالة من مصادر مختلفة، إن زمن احتباس ديفيراسيروكس في هذه الطريقة هو 12.14 دقيقة بينما بلغ في الدراسة المنشورة للباحث Saravanan 8.70 دقيقة [10] كما أن حساسية هذه الطريقة التحليلية المطورة أكبر من الحساسية في طريقة Saravanan واختلفت الدراسات في الشوائب المدروسة والشروط الكروماتوغرافية المطبقة، يمكن اعتماد الطريقة المطورة في تعيين مرتسم الشوائب لعدد أكبر من العينات التجارية المسوقة ديفيراسيروكس.

Reference

1. REYNOLDS J, . Martindale. The complete drug reference, Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, thirty sixth ed. 2009. 471–477.
2. HIDER R,. Charge states of deferasirox–ferric iron complexes, Am. J. Kidney Dis. Vol. (55), 2010. 614–615.
3. Nick H. Deferasirox preclinical overview, Semin. Hematol. Vol. 44, 2007. 12–15.
4. CAPPELLINI M. Long-term efficacy and safety of deferasirox, Blood Rev. Vol. 22, 2008. 35–41.
5. KATARZYNA G., ANDRZEJ P. Organic solvents in the pharmaceutical industry. Acta Poloniae Pharmaceutica. Drug Research. Vol. 67(1), 2010. 13-26.
6. Nita YADAV, Murli Dhar Kharya Rajesh Yadav. A review: Quality control of residual solvents in pharmaceuticals. World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. Vol. 3(4), 2014. 526-538.
7. USP36-NF31, United States Pharmacopoeia 2013-Impurities in official articles <1086>
8. International Conference on Harmonization (ICH) of Technical Requirement for Registration of Pharmaceutical for Human Use, 2008-Impurities, Topic Q3A, Impurities in New Drug Substances.
9. KATARZYNA G., ANDRZEJ P., Analytical methods for residual solvents determination in pharmaceutical products, Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research. Vol. 67(1), 2010.13-26.
10. SARAVANAN S., WETHA R. Method development and validation for determination of impurities in deferasirox by RP-HPLC technique. Journal of Drug Delivery & Therapeutics; Vol. 2(3), 2012.148-152.
11. CHAUZIT E., BOUCHET S., MAHON F., MOORE N., TITIER K., MOLIMARD M. A method to measure deferasirox in plasma using HPLC coupled with MS/MS detection and its potential application, Ther. Drug Monit. Vol. 32, 2010.476–481.
12. RAJA R., SURENDRANATH K., RADHAKRISHNAN P., SATISH J., SATYANARAYANA P. A stability indicating LC method for Deferasirox in bulk drugs and pharmaceutical dosage forms, Chromatographia. Vol. 72, 2010. 441–446.
13. CHAKRAVARTHY V., SANKAR D. LC determination of Deferasirox in pharmaceutical formulation, J. Global Treat. Pharm. Sci. Vol.1, 2010. 42–52.
14. THOMAS S. et al. Identification, characterization and quantification of a new impurity in deferasirox active pharmaceutical ingredient by LC–ESI–QT/MS/MS. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. Vol. 63, 2012. 112-119.
15. International Conference on Harmonization (ICH) of Technical Requirement for Registration of Pharmaceutical for Human Use. 2005 -Topic Q2R1, Validation of Analytical Procedures.
16. Haroun M., ALAHAMD Y., ISMAIL A. Qualitative and quantitative determination of one process-related impurity of Dapagliflozin Propandiol Monohydrate as raw material. Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Health Sciences Series. Vol. 44(3), 2022. 171-189.