

Быстрое, простое и надежное исследование жидких проб с помощью трансмиссионной ИК-Фурье

Сравнение модуля DialPath и стандартной жидкостной кюветы для количественного анализа симетикона с помощью ИК-Фурье-спектрометра Agilent Cary 630

Автор

Фабиан Зишан (Fabian Zieschang),
Весам Альван (Wesam Alwan)
Agilent Technologies, Inc.



Введение

Инфракрасная спектроскопия с Фурье-преобразованием (ИК-Фурье) – это широко применяемый в фармацевтической промышленности метод анализа, который играет важную роль в контроле качества готовой фармацевтической продукции. Однако точное и прецизионное исследование жидких фармацевтических проб методом трансмиссионной ИК-Фурье зачастую осложняется необходимостью использовать разборную или проточную кювету. Ряд проблем с этими кюветами делает анализ жидкостей с их помощью сложным, ненадежным и длительным:

- Кюветы очень хрупкие, а собрать вместе окошки и прокладки может быть непростой задачей.
- Конструкция кювет усложняет достижение воспроизводимости длины оптического пути.
- Кюветы склонны к утечкам.
- Анализ могут помешать пузырьки воздуха.
- Очистка и сборка кювет отнимают много времени.
- Исследовать с помощью таких кювет липкие и вязкие пробы очень трудно.
- Для работы необходим большой объем пробы и промывочного растворителя.

Уникальный модуль Agilent DialPath ИК-Фурье-спектрометра Agilent Cary 630 позволяет не использовать стандартные проточные или разборные кюветы и упрощает анализ жидких проб. Небольшая капля жидкой пробы помещается между двумя горизонтальными окошками модуля DialPath, как показано на рис. 1 (в центре) и рис. 2. Расстояние между окошками задает длину оптического пути.



Рисунок 1. Три простых шага для исследования жидких проб с помощью ИК-Фурье-спектрометра Agilent Cary 630 с модулем DialPath.

Модуль DialPath позволяет простым поворотом тумблера мгновенно выбрать одну из трех заданных длин оптического пути. У модуля Agilent Tumbler, основанного на той же технологии, что и модуль DialPath, доступна только одна длина оптического пути, а не три. Оба модуля не требуют юстировки и легко подсоединяются к основному блоку ИК-Фурье-спектрометра Agilent Cary 630. Программное обеспечение Agilent MicroLab автоматически определяет подключенный к основному блоку ИК-Фурье-спектрометра Agilent Cary 630 модуль и применяет нужные параметры, что позволяет даже неопытному пользователю заменить модуль за считанные секунды.

В этом исследовании основной блок ИК-Фурье-спектрометра Agilent Cary 630 с модулем DialPath применялись для количественного анализа симетикона в доступных на рынке антацидах. Для сравнения те же данные собирались методом стандартной ИК-Фурье с использованием разборной кюветы в отсеке для измерения проб в режиме пропускания. Количественный анализ симетикона описан в монографии ФармСША и национального рецептурного справочника, USP43-NF38, стр. 4044 (1). Согласно монографии, количество симетикона в лекарственных формулах определяется в виде процентной концентрации путем сравнения со стандартным раствором симетикона с концентрацией 2 мг/мл (2 мг/мл является 100%-й концентрацией).

Экспериментальная часть

Приготовление холостых, стандартных и контрольных растворов пробы

Согласно USP43-NF38, количественный анализ симетикона означает определение процентной концентрации симетикона относительно известного стандарта симетикона. Стандартный раствор, содержащий 2 мг/мл (100%) симетикона, готовился из эталонного стандарта симетикона, отвечающего требованиям ФармСША. Порядка 25 мг симетикона ФармСША (CAS 8050-81-5) точно взвешивались и переносились в стеклянную центрифужную пробирку объемом 50 мл с навинчивающейся пробкой. В пробирку добавлялись 12,5 мл толуола квалификации «для спектроскопии» и 25 мл HCl с концентрацией 4,8 моль/л. Пробирка встряхивалась вручную в течение 5 минут, а затем — на вихревой мешалке в течение тех же 5 минут. После этого пробирка центрифугировалась с частотой вращения 1500 об/мин в течение 30 минут. Около 5 мл верхнего органического слоя переносились в центрифужную пробирку объемом 50 мл с навинчивающейся пробкой, содержавшей порядка 1 г безводного сульфата натрия для осушения. Эта пробирка интенсивно встряхивалась вручную в течение 1 минуты и центрифугировалась в течение 10 минут до получения прозрачного раствора. Холостая проба готовилась точно так же, только без добавления симетикона ФармСША. Для проверки методики на пробах с высокой, низкой и средней концентрацией готовились три контрольные пробы, содержавшие 81,2%, 114,0% и 100,7% симетикона.

Подготовка к анализу капсул с симетиконом

Симетикон в виде капсул одной из коммерчески доступных разновидностей был приобретен в местной аптеке. В инструкции по применению указано, что в каждой капсуле содержится 100 мг симетикона. Каждая капсула растворялась в 100 мл HCl с концентрацией 4,8 моль/л и 50 мл толуола, чтобы получить раствор с номинальной концентрацией 2 мг/мл (процентная концентрация 100%). Процедура экстракции была идентична описанной выше для стандартного раствора симетикона.



Рисунок 2. Жидкая проба помещалась на окошко для пробы модуля DialPath, подключенного к ИК-Фурье-спектрометру Agilent Cary 630.

Оборудование

Для исследования использовались ИК-Фурье-спектрометры Agilent Cary 630. Один ИК-Фурье-спектрометр Agilent Cary 630 был оборудован модулем для записи спектров пропускания для стандартной разборной жидкостной кюветы с окошками из фторида кальция и прокладкой толщиной 500 микрон (Omni-cell, Specac Ltd., Великобритания). Второй ИК-Фурье-спектрометра Agilent Cary 630 был оборудован модулем Agilent DialPath с длиной оптического пути 500 микрон (рис. 2).

Пробы делились на две части для параллельного анализа на двух ИК-Фурье-спектрометрах с помощью жидкостной кюветы и модуля DialPath. Для удаления остатков предыдущей пробы и снижения эффекта памяти жидкостная кювета промывалась большим количеством толуола. Для протирки двух соприкасающихся с пробой окошек модуля DialPath было достаточно нескольких капель изопропанола на салфетке. Для сбора данных и создания методики прямого расчета концентрации пробы применялось программное обеспечение MicroLab. Для компенсации поглощения растворителей пробы и для жидкостной кюветы, и для модуля DialPath записывался фоновый сигнал холостой пробы. Параметры сбора данных приведены в табл. 1.

Таблица 1. Параметры сбора данных ИК-Фурье-спектрометра, которые использовались для количественного анализа и для стандартной жидкостной кюветы, и для модуля DialPath.

Параметр	Установленное значение
Спектральный диапазон (см ⁻¹)	От 4 000 до 650
Сканирование фона	64
Сканирование пробы	64
Спектральное разрешение (см ⁻¹)	2
Запись фона	По холостой пробе
Длина оптического пути (микроны)	500*

* Согласно USP43-NF38.

Результаты и их обсуждение

Количественный анализ: стандартная разборная кювета для измерения в режиме пропускания по сравнению с модулем DialPath

Количественный анализ проб симетикона выполнялся на двух ИК-Фурье-спектрометрах Agilent Cary 630, один из которых был снабжен стандартной разборной жидкостной кюветой, а второй — модулем DialPath. Для количественного анализа использовалась точка максимального поглощения линии на примерно 1260 см⁻¹. Согласно монографии USP43-NF38, значения поглощения для стандарта и проб позволяют рассчитать процентную концентрацию симетикона по уравнению 1 (1):

Уравнение 1:

$$\text{Процентная концентрация} = \frac{A_U}{A_S} \cdot \frac{C_S}{C_U} \cdot 100\%$$

Подробнее:

$$\text{Процентная концентрация} = A_U \cdot \frac{1}{A_S} \cdot \frac{C_S}{C_U} \cdot 100\% \equiv A_U \cdot \left(\frac{1}{A_S} \cdot \frac{C_S}{C_U} \cdot 100\% \right)$$

$\equiv A_U \cdot (\text{множитель})$

A_U = поглощение раствора пробы

A_S = поглощение стандартного раствора

C_S = концентрация симетикона в стандартном растворе

C_U = номинальная концентрация симетикона в растворе пробы

Автоматизированный расчет процентной концентрации

Наглядные изображения, простой интерфейс и пошаговые инструкции, доступные с программным обеспечением MicroLab, облегчают работу пользователя. Обе методики ИК-Фурье для рутинного анализа растворов симетикона и для модуля DialPath, и для жидкостной кюветы были созданы на базе ПО MicroLab. Методики автоматически определяли максимальное поглощение линии примерно на 1260 см⁻¹ (по высоте пика с базовой линией по одной точке) и автоматически рассчитывали концентрацию по уравнению 1 (см. рис. 3).

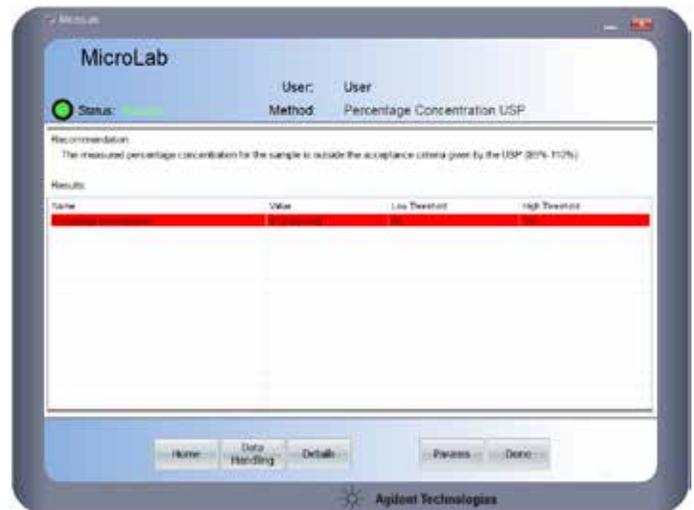
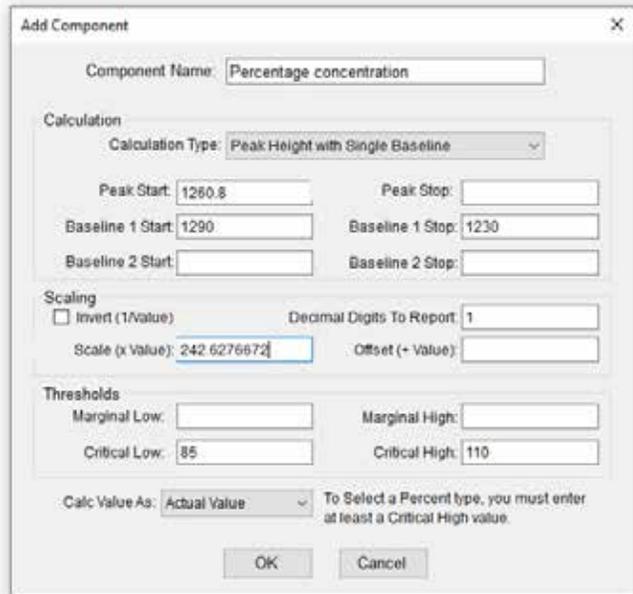


Рисунок 4. Для определения процентной концентрации в контрольных пробах и коммерчески доступных капсулах применялось ПО MicroLab. Практические результаты с цветовым кодированием выводятся сразу же после сбора данных в строке с пороговыми параметрами методики.

Рисунок 3. Для расчета количественных результатов из измеренных спектров ПО MicroLab использует «компоненты». Показанный выше компонент автоматически определяет максимальное значение поглощения (A_{λ}) линии, в данном примере примерно на $1260,8 \text{ см}^{-1}$. Масштаб (значение x) затем умножает поглощение на множитель, чтобы получить окончательный результат: процентная концентрация = значение поглощения (A_{λ}) \times множитель, как показано в уравнении 1. В данном исследовании множитель для модуля DialPath был равен 242,6276672.

Процентная концентрация симетикона в пробе выводится сразу же после сбора данных. Если результаты выходят за установленный ФармСША диапазон 85–110%, они выделяются красным, как показано на рис. 4 для контрольной пробы 1, содержащей 81,2% симетикона.

Две методики для ИК-Фурье-спектрометров Cary 630 применялись для определения процентной концентрации в контрольных пробах 1, 2 и 3 с помощью жидкостной кюветы и модуля DialPath. Результаты, представленные в табл. 2, показывают, что данные, полученные с помощью модуля DialPath, были точнее по сравнению с данными, полученными с помощью жидкостной кюветы.

Таблица 2. Процентная концентрация симетикона в трех контрольных пробах, измеренная с помощью ИК-Фурье-спектрометра Cary 630 с модулем DialPath и ИК-Фурье-спектрометра Cary 630 с трансмиссионной кюветой.

Контрольная проба	Теоретическая процентная концентрация симетикона (%)	ИК-Фурье-спектрометр Cary 630 с модулем DialPath		ИК-Фурье-спектрометр Cary 630 с трансмиссионной кюветой	
		Измеренная процентная концентрация (%)	Точность (%)	Измеренная процентная концентрация (%)	Точность (%)
1	81,2	81,2	100	80,3	98,8
2	114,0	113,1	99,2	111,1	97,4
3	100,7	102,6	98,1	103,1	97,7

Процентные концентрации симетикона в коммерчески доступных капсулах, измеренные с помощью двух ИК-Фурье-спектрометров Cary 630 (один – с модулем DialPath, второй – с жидкостной кюветой), попадали в установленный ФармСША диапазон 85,0–110,0% (табл. 3) (7). Результаты позволяют заключить, что модуль DialPath подходит для определения процентной концентрации симетикона в жидких лекарственных формулах в соответствии с требованиями Фармакопеи США.

Таблица 3. Процентная концентрация симетикона в коммерчески доступных капсулах, измеренная методом ИК-Фурье с помощью модуля DialPath и трансмиссионной кюветы.

	Процентная концентрация (%), измеренная с помощью модуля DialPath	Процентная концентрация (%), измеренная с помощью трансмиссионной кюветы
Проба коммерческого препарата 1	101,3	103,8
Проба коммерческого препарата 2	101,7	101,8
Проба коммерческого препарата 3	102,4	102,6

Для ИК-Фурье-спектрометра Cary 630 с модулем DialPath определялись также аналитические характеристики, такие как точность, прецизионность, линейность и диапазон концентраций.

Точность измерения

Для проверки точности измерения с помощью модуля DialPath использовался метод добавки стандарта. В три аликвоты пробы с номинальной процентной концентрацией симетикона 97,3% вносились дополнительно 5, 10 и 15% симетикона добавлением точного объема стандартного раствора симетикона высокой концентрации. После этого каждая проба с добавкой измерялась три раза и из результатов рассчитывалась средняя степень извлечения по уравнению:

$$\text{Уравнение 2: \% степени извлечения} = (C_1 / C_2) \times 100$$

C_1 = измеренная процентная концентрация

C_2 = расчетная процентная концентрация

Степени извлечения, представленные в табл. 4, находятся в пределах 100,5%, что демонстрирует высокую точность измерения с помощью ИК-Фурье-спектрометра Cary 630 с модулем DialPath.

Таблица 4. Результаты анализа проб симетикона с добавкой трех разных процентных концентраций симетикона, выполненного с помощью ИК-Фурье-спектрометра Cary 630 с модулем DialPath для определения точности методики, $n = 3$.

Процентная концентрация пробы (%)	Добавленная процентная концентрация (%)	Расчетная процентная концентрация (%)	Измеренная процентная концентрация (%)	Средняя степень извлечения (%)
97,3	5,0	102,3	102,4	100,1 ± 0,2
97,3	10,0	107,3	107,8	100,5 ± 0,4
97,3	15,0	112,3	112,7	100,4 ± 0,1

Прецизионность измерения

Прецизионность измерений с помощью ИК-Фурье-спектрометра Cary 630 с модулем DialPath определялась с помощью исследования повторяемости. Раствор симетикона делился на шесть порций, каждая из которых анализировалась отдельно. Повторяемость результатов оценивалась путем расчета среднего значения и стандартного отклонения поглощения и процентной концентрации симетикона (табл. 5). ИК-Фурье-спектрометр Cary 630 с модулем DialPath продемонстрировал высокую прецизионность. Стандартное отклонение для поглощения составило 0,0013, а для концентрации – 0,34%.

Таблица 5. Повторяемость результатов, полученных с помощью ИК-Фурье-спектрометра Cary 630 с модулем DialPath для шести измерений одной и той же пробы.

	Поглощение	Процентная концентрация пробы (%)
Порция пробы 1	0,4154	100,8
Порция пробы 2	0,4144	100,5
Порция пробы 3	0,4137	100,4
Порция пробы 4	0,4167	101,1
Порция пробы 5	0,4158	100,9
Порция пробы 6	0,4178	101,4
Среднее значение	0,4156	100,9
Стандартное отклонение	0,0013	0,34

Линейность калибровки и диапазон концентраций

Линейность отношения концентрации определяемого вещества к значению поглощения при использовании модуля DialPath была продемонстрирована с помощью построения калибровочной кривой и ее оценки по методу наименьших квадратов. Калибровочные стандарты для пяти разных концентраций симетикона в диапазоне 0–190% готовились разведением. Для оценки линейности спектрального сигнала модуля DialPath применялась высота пика симетикона ($1260,8 \text{ см}^{-1}$). По результатам этих измерений строилась калибровочная кривая, а также рассчитывался коэффициент корреляции (R^2) калибровочной кривой. Калибровочная кривая строилась и все статистические расчеты проводились в ПО MicroLab Quant.

График высоты пиков симетикона (на $1260,8 \text{ см}^{-1}$) относительно концентрации показывает, что спектральный сигнал модуля DialPath демонстрирует отличную линейность с коэффициентом корреляции $R^2 = 0,9997$ (рис. 5).



Рисунок 5. Оценка линейности для модуля DialPath с помощью ПО MicroLab Quant. Калибровочные кривые строятся и коэффициенты корреляции рассчитываются программой автоматически. Пользователи могут вывести полученные результаты в отчет для документирования.

Пробопоток и использование ресурсов

Количественный анализ симетикона с помощью ИК-Фурье-спектрометра Cary 630 с модулем DialPath позволяет значительно увеличить пробопоток, использовать малый объем пробы и уменьшить объем отходов растворителя по сравнению с анализом с помощью жидкостной трансмиссионной кюветы (см. рис. 6).

За один час работы модуль DialPath позволяет проанализировать экстракты 40 проб: вдвое больше, чем жидкостная кювета. Для обоих методов сбор данных занимает примерно 1 минуту. Кроме того, модулю DialPath нужно всего 20 мкл раствора пробы симетикона, в то время как на заполнение жидкостной кюветы расходуется по 5 мл каждой пробы.

Чтобы избежать эффекта памяти, перед вводом новой пробы жидкостную кювету необходимо несколько раз промыть. Модуль DialPath очищается салфеткой и несколькими каплями растворителя, что уменьшает количество отходов растворителя и позволяет сэкономить на стоимости растворителя и его утилизации. Модуль DialPath прост в использовании и не требует некоторых действий, необходимых для работы с жидкостными трансмиссионными кюветами (например, промывки между пробами, контроля отсутствия пузырьков воздуха и правильного выбора апертурных диафрагм). Модуль DialPath — это значительная экономия пробы, времени и денег.

	DialPath	Жидкостная кювета
60 мин		
Раствор пробы на пробу	 20 мкл	 5 мл
Чистящий раствор на пробу	 <1 мл	 5 мл

Рисунок 6. Результаты после 60 минут анализа экстрактов симетикона с помощью ИК-Фурье-спектрометра Cary 630 с модулем DialPath и ИК-Фурье-спектрометра Cary 630 со стандартной жидкостной трансмиссионной кюветой.

Выводы

В данных рекомендациях по применению описано применение ИК-Фурье-спектрометра Cary 630 с высокоэффективной приставкой для измерения в режиме пропускания (DialPath) для быстрого количественного анализа жидких проб фармацевтических препаратов.

Аналитические характеристики, скорость анализа и инновационный алгоритм работы с пробами ИК-Фурье-спектрометра Cary 630 с модулем DialPath позволили быстро разработать и внедрить количественную методику определения симетикона.

Качество полученных с помощью ИК-Фурье-спектрометра Cary 630 с модулем DialPath количественных данных было сравнимо или выше, чем для результатов, полученных с помощью ИК-Фурье-спектрометра Cary 630 со стандартной жидкостной кюветой. Однако удобство работы с модулем DialPath позволяет сэкономить немало времени и денег по сравнению с использованием стандартной жидкостной кюветы, что делает его идеально подходящим для использования в фармацевтической промышленности.

ИК-Фурье-спектрометр Cary 630 с модулем DialPath обеспечивает высокую линейность калибровки и позволяет определять симетикон в концентрации до 190% с отличной повторяемостью. Высокая точность и низкий разброс полученных аналитических данных демонстрируют эффективность оборудования, методики и аналитических результатов.

ИК-Фурье-спектрометр Cary 630 соответствует требованиям к аналитическим характеристикам, выдвигаемым всеми основными фармакопеями, такими как Европейская, Индийская и Японская фармакопеи, а также фармакопея США. Опциональное ПО MicroLab Pharma помогает обеспечить соответствие нормативным требованиям части 11 тома 21 свода федеральных законоположений FDA США, приложения 11 ЕС и подобным им национальным нормативным требованиям к электронным данным.

Литература

1. Simethicone Emulsion. United States Pharmacopeia and National Formulary (USP43-NF38-4044). DocID: GUID-4965A93F-3617-485C-87B4-1DFBDF33EC3F_4_en-US.

www.agilent.com/chem

DE44297.9470717593

Информация в этом документе может быть изменена без уведомления.

© Agilent Technologies, Inc., 2021
Напечатано в США 14 апреля 2021 г.
5994-3046RU