

Des mesures rapides, faciles et fiables d'échantillons liquides par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) en transmission

Comparaison du module DialPath et d'une cellule liquide traditionnelle pour la quantification de la siméticone avec un système FTIR Cary 630 Agilent

Auteurs

Fabian Zieschang
Wesam Alwan
Agilent Technologies, Inc.



Introduction

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) est une technique couramment utilisée dans l'industrie pharmaceutique où elle joue un rôle important dans le contrôle qualité des produits pharmaceutiques finaux. Cependant, il est souvent difficile d'obtenir des mesures exactes et précises d'échantillons pharmaceutiques liquides par FTIR en transmission lorsque des cellules démontables ou à flux sont utilisées. Les difficultés qui se posent lors de l'analyse de liquides compliquent l'utilisation de ces cellules, tendent à induire des erreurs et sont chronophages :

- Les cellules sont fragiles, et les entretoises et les fenêtres peuvent être difficiles à assembler.
- La conception des cellules fait qu'il est difficile d'avoir un trajet optique reproductible.
- Les cellules ont tendance à fuir.
- Des bulles d'air sont susceptibles de compromettre l'analyse.
- Le nettoyage et l'assemblage des cellules sont chronophages.
- Les échantillons collants et visqueux sont difficiles à mesurer.
- Des quantités significatives de volume d'échantillon et de solvant de rinçage sont nécessaires.

Le module exclusif d'échantillonnage Agilent DialPath pour le spectromètre FTIR Agilent Cary 630 élimine la nécessité d'utiliser des cellules liquides à flux ou démontables traditionnelles, simplifiant ainsi l'analyse des échantillons liquides. Une petite goutte d'échantillon liquide est placée entre deux fenêtres placées en position horizontale dans le module DialPath, comme l'indiquent la figure 1 (au milieu) et la figure 2. La distance entre les deux fenêtres définit le trajet optique.



Figure 1. Avec le spectromètre FTIR Agilent Cary 630 et le module DialPath, l'analyse des échantillons liquides est réalisée en trois étapes simples.

Le module DialPath permet de sélectionner instantanément trois trajets optiques prédéfinis en faisant tourner la tête du module (« dialed-in »). Le module Agilent Tumbler, qui utilise la même technologie que le module DialPath, n'a qu'un trajet optique disponible au lieu de trois. Les deux modules sont constamment alignés et faciles à fixer à l'avant du banc du système FTIR Cary 630. Le logiciel Agilent MicroLab détecte automatiquement quel module est utilisé sur le système FTIR Cary 630 et applique les paramètres adéquats si bien que même un utilisateur inexpérimenté pourra changer de module en quelques secondes.

Dans cette étude, un FTIR Cary 630 équipé d'un module DialPath a été utilisé pour la quantification de la siméticone dans un médicament antiacide disponible sur le marché. À titre de comparaison, des données ont également été acquises par l'approche FTIR traditionnelle en utilisant une cellule démontable dans un compartiment d'échantillon de transmission. La quantification de la siméticone est décrite dans la monographie USP-NF, USP43-NF38, page 4044 (1). Selon la monographie, la quantité de siméticone dans une formule médicamenteuse est définie sous forme de pourcentage de l'échantillon par rapport à une solution d'étalon de siméticone à une concentration de 2 mg/mL (2 mg/mL correspondant à un pourcentage de 100 %).

Méthode expérimentale

Préparation des solutions d'échantillon de blanc, d'étalon et de contrôle

La monographie USP43-NF38 décrit la quantification de la siméticone en termes de concentration exprimée en pourcentage par rapport à une solution d'étalon de siméticone. Une solution d'étalon de siméticone contenant 2 mg/mL (100 %) de siméticone a été préparée à partir d'une solution d'étalon de siméticone USP de référence. Environ 25 mg de siméticone USP (CAS 8050-81-5) ont été pesés exactement puis transférés dans un tube à centrifugeuse de 50 mL en verre avec bouchon à vis. 12,5 mL de toluène de grade spectroscopie puis 25 mL de HCl 4,8 M ont été ajoutés au tube. Le tube a été agité à la main pendant 5 minutes puis 5 minutes sur un mélangeur vortex. Le tube a ensuite été centrifugé à 1 500 tr/min pendant 30 minutes. Environ 5 mL de la couche organique supérieure ont été transférés à un tube à centrifugeuse de 50 mL avec bouchon à vis contenant environ 1 g de sulfate de sodium anhydre pour éliminer toute eau résiduelle de la couche organique. Le tube a été agité vigoureusement à la main pendant 1 minute et centrifugé pendant 10 minutes jusqu'à obtention d'une couche claire. Un blanc a été préparé par le même procédé mais sans ajouter de siméticone USP. Afin de tester la méthode sur des échantillons contenant une concentration faible, élevée ou comprise dans la plage de mesure, trois échantillons de contrôle contenant 81,2, 114,0 et 100,7 % de concentration de siméticone ont également été préparés.

Préparation de capsules contenant de la siméticone

Un type de capsules de siméticone disponibles commercialement a été acheté dans une pharmacie locale. L'étiquette indiquait que chaque capsule contenait 100 mg de siméticone. Chaque capsule a été dissoute dans 100 mL de HCl 4,8 M et 50 mL de toluène pour obtenir une solution de concentration nominale de 2 mg/mL (soit une concentration de 100 %). L'extraction a été réalisée suivant la procédure décrite pour la solution d'étalon de siméticone.



Figure 2. L'échantillon liquide est placé sur la fenêtre d'échantillon du module DialPath installé sur le spectromètre FTIR Agilent Cary 630.

Instruments

Deux spectromètres FTIR Agilent Cary 630 ont été utilisés pour cette étude. Le premier instrument FTIR Cary 630 était équipé d'un module de transmission conçu pour une cellule liquide démontable traditionnelle avec fenêtres en fluorure de calcium et une entretoise de 500 microns (Omni-cell, Specac Ltd., UK). Le deuxième instrument FTIR Cary 630 était équipé d'un module Agilent DialPath avec un trajet optique de 500 microns (figure 2).

Les échantillons ont été divisés en deux lots pour une analyse parallèle par les deux spectromètres FTIR avec la cellule liquide et le module DialPath. Afin de minimiser les résidus ou tout effet mémoire entre échantillons, la cellule liquide a été lavée avec un grand volume de toluène. Seules quelques gouttes d'isopropanol sur un chiffon ont été nécessaires pour nettoyer les deux fenêtres d'échantillon du module DialPath. Le logiciel MicroLab a été utilisé pour collecter les données et créer une méthode permettant de calculer directement la concentration de l'échantillon. Afin de compenser l'absorbance des solvants d'échantillon, le bruit de fond a été mesuré par rapport au blanc dans la cellule liquide et sur le module DialPath respectivement. Les paramètres de collecte des données sont indiqués dans le tableau 1.

Tableau 1. Paramètres de collecte des données FTIR utilisés pour les mesures de quantification avec la cellule liquide traditionnelle et le module DialPath.

Paramètre	Valeur
Domaine spectral (cm ⁻¹)	4 000 à 650
Balayages pour mesurer le bruit de fond	64
Balayages pour mesurer les échantillons	64
Résolution spectrale (cm ⁻¹)	2
Collecte des données de bruit de fond	Un blanc a été utilisé
Trajet optique (microns)	500*

*Spécifié dans la monographie USP43-NF38

Résultats et discussion

Analyse quantitative : cellules de transmission démontable traditionnelle versus DialPath

L'analyse quantitative des échantillons de siméticone a été réalisée avec deux spectromètres FTIR Cary 630, l'un équipé d'une cellule liquide démontable traditionnelle et l'autre d'un module DialPath. L'absorbance maximale de la bande à environ 1 260 cm⁻¹ a été utilisée pour la quantification. Selon la monographie USP43-NF38, les valeurs d'absorbance pour la solution d'étalon et les échantillons peuvent être utilisées pour calculer le pourcentage de concentration de la siméticone en utilisant l'équation 1 (7) :

Équation 1 :

$$\text{Concentration exprimée en pourcentage} = \frac{A_U}{A_S} \cdot \frac{C_S}{C_U} \cdot 100\%$$

Plus de détails :

$$\text{Concentration exprimée en pourcentage} = A_U \cdot \frac{1}{A_S} \cdot \frac{C_S}{C_U} \cdot 100\% \equiv A_U \cdot \left(\frac{1}{A_S} \cdot \frac{C_S}{C_U} \cdot 100\% \right)$$

$\equiv A_U \cdot (\text{facteur de multiplication})$

A_U = absorbance de la solution d'échantillon

A_S = absorbance de la solution d'étalon

C_S = concentration de siméticone dans la solution d'étalon

C_U = concentration nominale de siméticone dans la solution d'échantillon

Calcul automatique du pourcentage de concentration

Le logiciel MicroLab aide les utilisateurs à suivre l'ensemble du flux de travail analytique grâce à des images instructives et à une navigation aisée. Les deux méthodes FTIR d'analyse de routine des solutions de siméticone avec le module DialPath et la cellule liquide ont été créées dans le logiciel MicroLab. Les méthodes déterminent automatiquement l'absorbance maximale à ~1 260 cm⁻¹ (en utilisant la hauteur de pic avec un seul composant initial) et le logiciel applique automatiquement le calcul selon l'équation 1 (voir la figure 3).

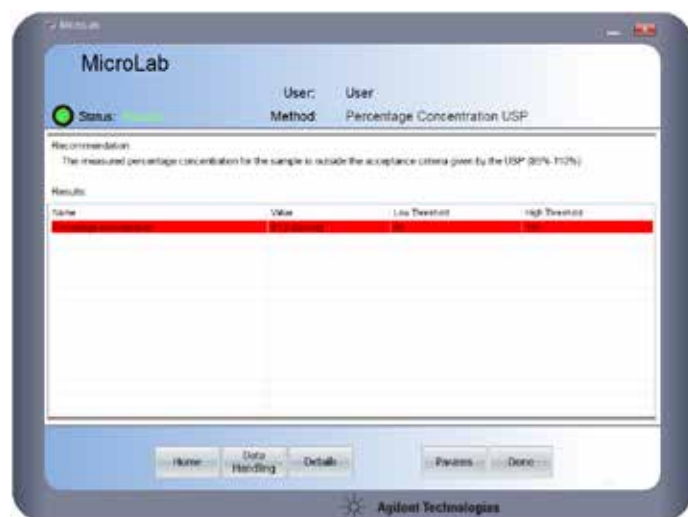
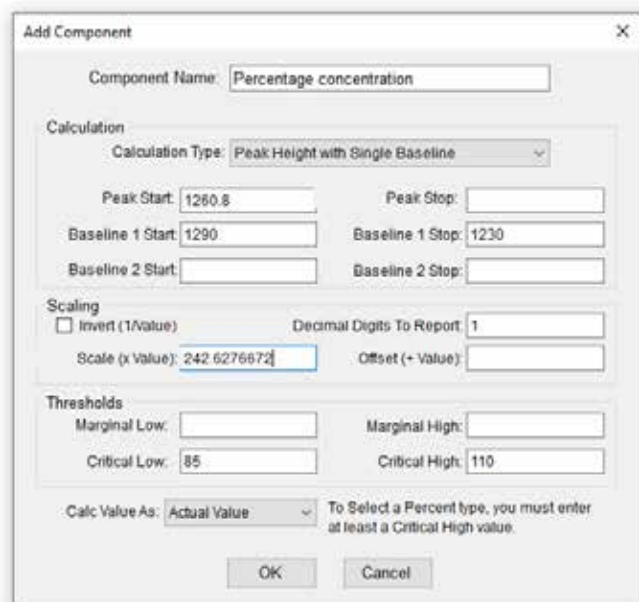


Figure 4. Le logiciel MicroLab a été utilisé pour établir la concentration exprimée en pourcentage des échantillons contrôles et de la capsule disponible commercialement. Les résultats exploitables avec code couleur sont rapportés directement après l'acquisition des données en tenant compte du paramétrage des seuils de la méthode.

Figure 3. Dans le logiciel MicroLab, les « composants » sont utilisés pour calculer les résultats quantitatifs à partir des spectres mesurés. Les composants montrés ci-dessus déterminent automatiquement la valeur d'absorbance (A_{λ}) au maximum de la bande, en l'occurrence à environ $1260,8\text{ cm}^{-1}$. L'échelle (valeur de x) applique ensuite un facteur de multiplication à la valeur d'absorbance pour obtenir le résultat final : Pourcentage de concentration = valeur d'absorbance (A_{λ}) x facteur de multiplication—comme expliqué dans l'équation 1. Dans cette étude, le facteur de multiplication pour le module DialPath est 242,6276672.

Les deux méthodes FTIR Cary 630 ont été utilisées pour définir la concentration en pourcentage des échantillons contrôles 1, 2 et 3 avec la cellule liquide et le module DialPath. Les résultats présentés dans le tableau 2 montrent que l'on obtient des résultats plus précis avec l'accessoire DialPath qu'avec la cellule liquide.

Le pourcentage de concentration de siméticone dans un échantillon est rapporté directement après l'acquisition des données. Si certains résultats ne répondent pas aux critères d'acceptation de 85 à 110 % spécifiés par l'USP, ils sont signalés par une balise rouge, comme le montre la figure 4 pour l'échantillon de contrôle 1 qui contient 81,2 % de siméticone.

Tableau 2. Concentration en pourcentage de siméticone dans les trois échantillons contrôles mesurés sur le système FTIR Cary 630 avec le module DialPath et le système FTIR Cary 630 avec une cellule de transmission.

Échantillon de contrôle	Pourcentage théorique Concentration de siméticone (%)	FTIR Cary 630 avec DialPath		FTIR Cary 630 avec cellule de transmission	
		Concentration mesurée en pourcentage (%)	Exactitude (%)	Concentration mesurée en pourcentage (%)	Exactitude (%)
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

Les concentrations en pourcentage de siméticone dans les capsules disponibles commercialement mesurées par les deux spectromètres FTIR Cary 630 équipés d'un module DialPath et d'une cellule liquide étaient dans la plage d'acceptation de 85,0 à 110,0 % spécifiée par l'USP (tableau 3) (7). Les résultats suggèrent que le module DialPath est une technique d'échantillonnage appropriée pour établir la concentration en pourcentage de siméticone dans des formules médicamenteuses liquides conformément aux exigences de l'USP.

Tableau 3. Concentrations en pourcentage de siméticone de capsules commerciales, obtenues sur spectromètre FTIR avec un module DialPath et une cellule de transmission.

	Pourcentage mesuré avec le module DialPath Concentration (%)	Concentration en pourcentage (%) mesuré avec une cellule de transmission
Échantillon commercial 1	101,3	103,8
Échantillon commercial 2	101,7	101,8
Échantillon commercial 3	102,4	102,6

La performance du spectromètre FTIR Cary 630 avec le module DialPath a également été évaluée en termes d'exactitude, de précision, de linéarité et de plage de concentrations.

Exactitude de mesure

Un test de dopage d'étalon a été réalisé pour vérifier l'exactitude des mesures avec DialPath. Trois aliquotes d'un échantillon à une concentration nominale de siméticone de 97,3 % ont été dopées avec 5, 10 et 15 % de siméticone en ajoutant des volumes exacts d'une solution d'étalon à concentration élevée en siméticone. Chaque échantillon dopé a été mesuré trois fois et le recouvrement moyen a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Équation 2 : \% de recouvrement} = (C_1/C_2) \times 100$$

C_1 = concentration mesurée en pourcentage

C_2 = concentration calculée en pourcentage

Les résultats de recouvrement présentés dans le tableau 4 étaient tous inférieurs à 100,5 %, ce qui indique que des mesures extrêmement précises peuvent être obtenues avec le système FTIR Cary 630 équipé du module DialPath.

Tableau 4. Analyse d'un échantillon de siméticone dopé avec des solutions de siméticone de trois pourcentages différents avec le système FTIR Cary 630 et le module DialPath pour établir l'exactitude de la méthode, n=3.

Concentration de l'échantillon en pourcentage (%)	Concentration en pourcentage après dopage (%)	Concentration calculée en pourcentage (%)	Concentration mesurée en pourcentage (%)	Recouvrement moyen (%)
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

Précision de mesure

La précision des mesures avec le système FTIR Cary 630 et le module DialPath a été évaluée en menant une étude de reproductibilité. Une solution de siméticone a été divisée en six portions pour analyser chacune d'elles séparément. La reproductibilité des résultats a été évaluée en calculant la moyenne et l'écart-type de l'absorbance et de la concentration de siméticone exprimée en pourcentage (tableau 5). Le système FTIR Cary 630 et le module DialPath ont montré une excellente précision avec un écart-type de seulement 0,0013 pour l'absorbance et 0,34 % pour les mesures de concentration.

Tableau 5. Étude de reproductibilité sur le système FTIR Cary 630 avec DialPath pour six mesures d'un même échantillon.

	Absorbance	Concentration de l'échantillon en pourcentage (%)
Portion d'échantillon 1	0,4154	100,8
Portion d'échantillon 2	0,4144	100,5
Portion d'échantillon 3	0,4137	100,4
Portion d'échantillon 4	0,4167	101,1
Portion d'échantillon 5	0,4158	100,9
Portion d'échantillon 6	0,4178	101,4
Moyenne	0,4156	100,9
Écart-type	0,0013	0,34

Linéarité de l'étalonnage et plage de concentration

La linéarité entre la concentration de composés et la mesure d'absorbance avec le module DialPath a été démontrée en créant une courbe d'étalonnage et en évaluant celle-ci par une régression des moindres carrés. Des mélanges étalons de cinq concentrations allant de 0 à 190 % de siméticone ont été préparés par dilution appropriée. La hauteur de pic correspondant à la siméticone (1 260,8 cm⁻¹) a été utilisée pour évaluer la linéarité de la réponse spectrale du module DialPath. Ces mesures ont été utilisées pour obtenir la courbe d'étalonnage et pour calculer le coefficient de corrélation (R²) à partir de la courbe d'étalonnage. La courbe d'étalonnage a été créée et tous les calculs statistiques ont été effectués par le logiciel MicroLab Quant.

Le graphique de hauteur de pic de la siméticone (à 1 260,8 cm⁻¹) en fonction de la concentration indique que la réponse spectrale du module DialPath présente une excellente linéarité avec un coefficient de corrélation R² = 0,9997 (figure 5).

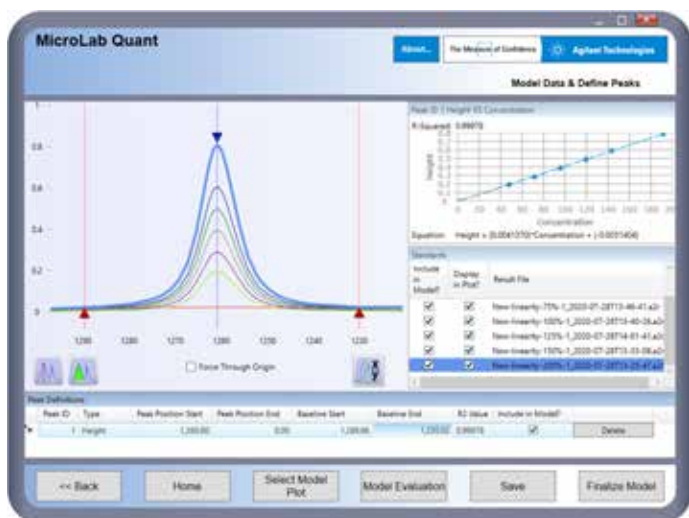


Figure 5. Évaluation de la linéarité du module DialPath avec le logiciel MicroLab Quant. Le logiciel crée les courbes d'étalonnage et calcule les coefficients de corrélation automatiquement. Les utilisateurs peuvent rapporter les résultats obtenus pour documentation.

Cadence d'analyse des échantillons et utilisation des ressources

La quantification de la siméticone sur le système FTIR Cary 630 avec le module DialPath offre une cadence d'analyse des échantillons significativement plus élevée, minimise le volume d'échantillon et réduit les déchets de solvant par rapport à une analyse effectuée avec une cellule liquide de transmission (voir la figure 6).

En une heure de temps d'analyse, le module DialPath a permis l'analyse de 40 extraits d'échantillons, soit deux fois plus que la cellule liquide. Le temps d'acquisition des données était d'environ 1 min. pour les deux techniques d'échantillonnage. En outre, le module DialPath ne nécessite que 20 µL de solution d'échantillon de siméticone contre 5 mL de chaque échantillon pour la cellule liquide.

Pour éviter tout effet mémoire, la cellule liquide doit être rincée plusieurs fois avant d'injecter l'échantillon suivant. Le module DialPath peut être nettoyé avec un chiffon imbibé de quelques gouttes de solvant, ce qui permet de réduire les déchets et les coûts en solvant et d'avoir moins de déchets à éliminer. Le module DialPath est une technique d'échantillonnage simple et facile à utiliser qui permet d'éviter la complexité associée à l'utilisation de cellules liquides de transmission (par ex. nettoyage entre chaque introduction d'échantillon, vérification de l'absence de bulles d'airs et manipulation appropriée des plaques d'ouvertures). Le module DialPath permet de faire des économies considérables en termes de volume d'échantillon, de temps et de coûts.

	DialPath	Cellule liquide
60 minutes		
Solution d'échantillon par échantillon	20 µL	5 mL
Solution de nettoyage par échantillon	<1 mL	5 mL

Figure 6. Tableau de scores après 60 min. d'analyse d'extraits de siméticone sur le système FTIR Cary 630 avec le module DialPath et le système FTIR Cary 630 avec une cellule liquide de transmission traditionnelle.

Conclusion

Dans cette note d'application, le spectromètre FTIR Cary 630 équipé de l'accessoire d'échantillonneur DialPath permettant une transmission de haute efficacité a été utilisé pour l'analyse quantitative rapide d'échantillons pharmaceutiques liquides.

La performance, la rapidité d'analyse et l'échantillonnage innovant du système Agilent FTIR Cary 630 équipé du module DialPath ont permis le développement et le déploiement rapides d'une méthode quantitative de mesure de la siméticone.

La qualité des données quantitatives générées par le système FTIR Cary 630 équipé du module DialPath était comparable, voire meilleure que celle des données obtenues avec le système FTIR Cary 630 avec une cellule traditionnelle. Cependant, l'utilisation du module DialPath permet une économie considérable en termes de temps et de coûts par rapport à l'utilisation de cellules liquides traditionnelles, ce qui la rend idéale pour les applications pharmaceutiques.

Le système FTIR Cary 630 équipé du module DialPath a permis un étalonnage extrêmement linéaire jusqu'à 190 % de siméticone avec une excellente reproductibilité. La grande exactitude et l'excellente précision des données analytiques obtenues pour les mesures de siméticone ont démontré l'efficacité de l'instrumentation, de la méthode et des résultats analytiques.

Le système FTIR Cary 630 répond aux exigences de performance de pharmacopées internationales telles que les pharmacopées européenne, américaine, indienne et japonaise. Le logiciel en option MicroLab Pharma facilite la conformité telle que définie par la réglementation de la FDA des États-Unis 21 CFR Part 11, de l'UE Annexe 11 et d'autres réglementations nationales relatives à l'enregistrement électronique.

Référence

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

Ces informations sont sujettes à modification sans préavis.

© Agilent Technologies, Inc. 2021
Imprimé aux États-Unis le 14 avril 2021
5994-3046FR