

Улучшенная целостность данных и меньше переменных факторов в спектрофотометрии видимого и УФ-диапазона

Мультикюветный спектрофотометр видимого
и УФ-диапазона Cary 3500 Multicell одновременно
измеряет калибровочную кривую и несколько проб



Автор

Dr. Matthew Quinn
(д-р Мэттью Квинн)
Agilent Technologies, Inc.
Melbourne, Victoria, Австралия

Введение

Как правило, процедуры контроля и обеспечения качества в фармацевтической промышленности требуют, чтобы качество активных фармацевтических компонентов и наполнителей регулярно проверялось как в ходе производства, так и после него. Один из распространенных для этого подходов — измерить концентрацию по калибровочной кривой с помощью спектрофотометрии видимого и УФ-диапазона. Несмотря на надежность этого подхода в процессе, в анализ могут вмешаться некоторые переменные факторы, которые угрожают целостности данных. Эти переменные в основном являются погрешностями прибора и оператора, а также возникают из-за факторов окружающей среды.

Ацетилсалициловая кислота — это активный компонент аспирина, распространенного противоревматического, противовоспалительного и общего болеутоляющего лекарственного препарата (1). На этом соединении был продемонстрирован подход, возможный только со спектрофотометром видимого и УФ-диапазона Agilent Cary 3500. Как и многие распространенные лекарственные препараты, кроме активного фармацевтического ингредиента таблетка аспирина в основном состоит из неактивных компонентов, таких как связующие, красители и вещества, улучшающие ее распадаемость.

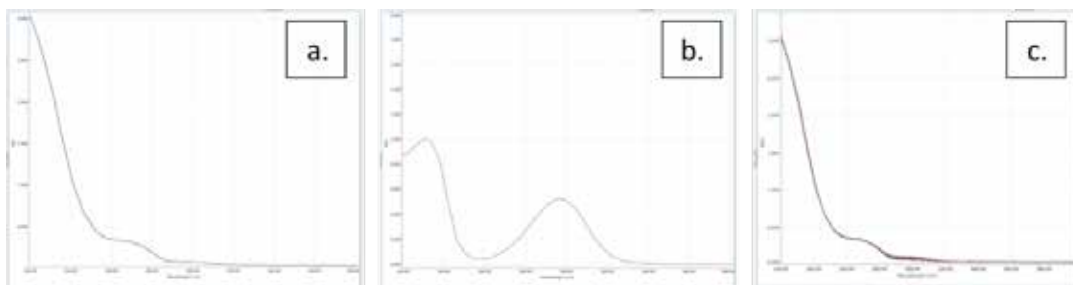


Рис. 1. Спектры поглощения ацетилсалициловой кислоты (а), салициловой кислоты (б) и сигнал поглощения одной и той же пробы ацетилсалициловой кислоты через четыре часа при 25 °С, демонстрирующий ход реакции гидролиза (с)

Концентрацию ацетилсалициловой кислоты несложно определить после ее гидролиза в деацетилированную форму — салициловую кислоту. Салициловая кислота затем определяется количественно по поглощению в видимом и УФ-диапазоне и сравнению полученных данных с калибровочной кривой.

Ошибки, возникающие из факторов окружающей среды, могут быть разного происхождения, например заметное изменение поглощения при небольшом изменении температуры или из-за контакта с водой. Ацетилсалициловая кислота легко гидролизуется водой в салициловую кислоту даже при комнатной температуре (рис. 1), что в значительной степени влияет на ее спектр поглощения.

Такая неустойчивость значит, что анализ с помощью обычного спектрофотометра видимого и УФ-диапазона следует выполнять как можно быстрее, при определенном значении pH и при определенной температуре. Как вариант, ацетилсалициловую кислоту перед анализом можно превратить в салициловую. В данном подходе считается, что до анализа в пробе свободной салициловой кислоты нет, что, как было показано ранее, является неверным (2). При повышенной температуре гидролиз может приводить к значительной погрешности, как показано на рис. 2. Все это говорит о том, что при определении ацетилсалициловой кислоты очень важно добиться снижения потенциальных ошибок из-за факторов окружающей среды.

Во многих методиках для того, чтобы избежать ошибки оператора, применяется параллельный анализ нескольких проб. Другими источниками ошибок могут быть намеренные или случайные оплошности при пробоподготовке и события, произошедшие между измерением отдельных проб, которые ведут

к погрешности в измерениях. Мультикюветный спектрофотометр Cary 3500 Multicell позволяет одновременно измерять оптическую плотность восьми кювет. Это дает возможность одновременно и в одинаковых условиях проанализировать семь стандартов и проб (плюс один раствор сравнения). Мультикюветный спектрофотометр Cary 3500 Multicell — это новый способ добиться целостности данных путем одновременного измерения проб, стандартов и контрольных образцов. Эта возможность позволяет избавиться от влияния переменных факторов окружающей среды и оператора и от опасности, которую они представляют для точности измерений.

Кроме того, спектрофотометр Cary 3500 имеет несколько ключевых особенностей, которые минимизируют приборную погрешность. У прибора нет движущихся частей, которые требуют юстировки, что предотвращает ошибки из-за плохо отрегулированных держателей пробы. Прибор также позволяет измерять оптическую плотность проб и стандартов одновременно. Это предотвращает появление ошибок, связанных с изменением параметров прибора и калибровки с течением времени. Тем самым спектрофотометр Cary 3500 помогает минимизировать переменные факторы, связанные с приборной погрешностью.

В этих методических рекомендациях измерялась концентрация образцов доступного на рынке аспирина. Для анализа пробы подвергались гидролизу, после чего их оптическая плотность измерялась на длине волны 296 нм. Одновременное измерение шести стандартов и одной пробы позволило минимизировать потенциальные источники приборной погрешности, погрешности оператора и погрешности из-за факторов окружающей среды.

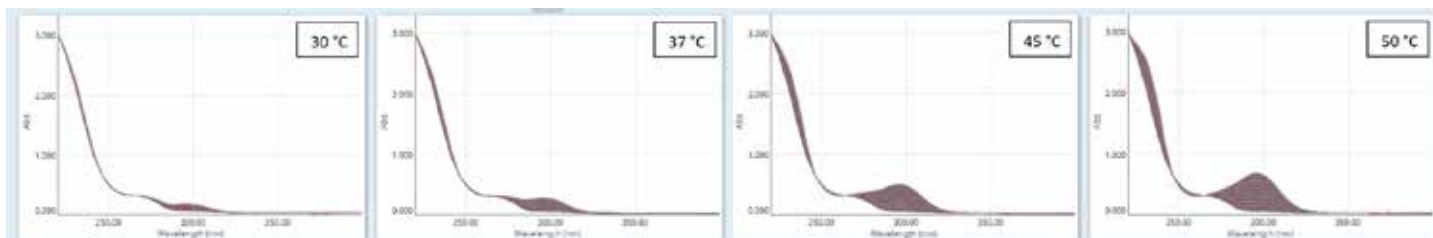


Рис. 2. Гидролиз ацетилсалициловой кислоты в салициловую кислоту при 30, 37, 45 и 50 °С в течение четырех часов демонстрирует повышение скорости реакции при повышении температуры

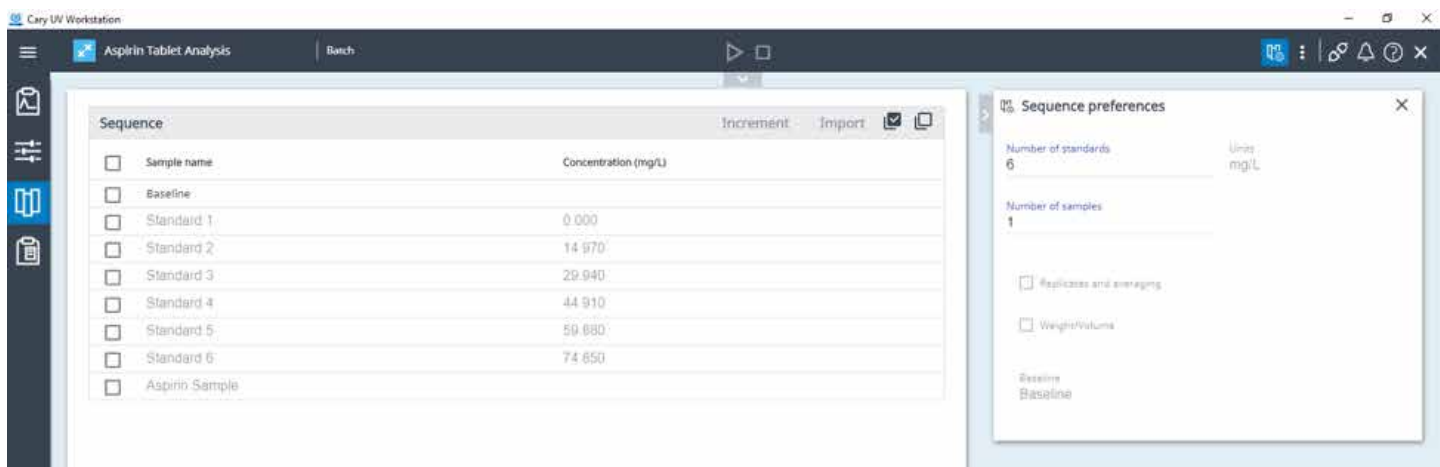


Рис. 3. Окно последовательности в приложении Cary UV Workstation Concentration, демонстрирующее выбор базовой линии, числа стандартов и проб, а также выбор единиц измерения и концентраций стандартов

Экспериментальная часть

Подготовка стандартного раствора

Исходный стандартный раствор салициловой кислоты готовился растворением 0,2 г чистой салициловой кислоты в фосфатном буфере со значением pH 7,5, приготовленном на деионизированной воде, полученной на деионизаторе Milli-Q. Стандартные растворы готовились, как показано в табл. 1, таким образом, чтобы значения их оптической плотности находились в диапазоне от 0 до 2 единиц.

Табл. 1. Концентрация готовых стандартов

Идент. стандарта	Концентрация (мг/л)
Стандарт 1	0
Стандарт 2	14,97
Стандарт 3	29,94
Стандарт 4	44,91
Стандарт 5	59,88
Стандарт 6	74,85

Основной гидролиз аптечных таблеток аспирина

Для исследования были приобретены доступные на рынке таблетки аспирина. Таблетка массой 163,7 мг растворялась в воде из деионизатора Milli-Q при 75 °С. Значение pH доводилось приблизительно до 12 одномолярным раствором гидроксида натрия. Для полного гидролиза ацетилсалициловой кислоты в салициловую проба выдерживалась в этих условиях в течение одного часа.

После этого проба доводилась водой до 1 л, разбавлялась так, чтобы попасть в диапазон калибровки, и подкислялась до значения pH 7,5.

Оборудование

Для этого исследования был выбран мультикюветный спектрофотометр видимого и УФ-диапазона Cary 3500 Multicell благодаря его способности измерять восемь кювет одновременно. Это позволяет измерить оптическую плотность всех растворов в одинаковых условиях.

Табл. 2. Параметры прибора

Параметр	Установленное значение
Диапазон длин волн (нм)	От 400 до 250
Ширина полосы спектра (нм)	2
Время усреднения сигнала (с)	0,4
Интервал данных (нм)	1
Измеряемая длина волны (нм)	296
Конфигурация зон	1 зона

Для измерения по 2,5 мл каждого из стандартов и пробы переносилось в кварцевые кюветы объемом 3,5 мл. В качестве раствора сравнения использовалась вода из деионизатора Milli-Q. С помощью программы Concentration из пакета APM Cary UV выбиралась одна зона, что позволяло одновременно измерить оптическую плотность семи кювет с одним раствором сравнения. Использовались параметры, приведенные в табл. 2.

Вводилась концентрация приготовленных стандартов, и задавалась базовая линия (рис. 3). В программе выбирались шесть стандартных растворов для построения калибровочной кривой и проба таблетки аспирина.

Измерялась базовая линия для каждой из позиций кюветы. Затем одновременно измерялась оптическая плотность стандартов и пробы.

Результаты и их обсуждение

Одновременный анализ калибровочной кривой и проб таблеток

В ходе измерения снимался спектр в диапазоне от 400 до 250 нм, это позволило совместить качественный и количественный анализ по пику салициловой кислоты. Измеренный максимум пика поглощения находился на длине волны 296 нм. Все стандарты и проба измерялись параллельно с помощью спектрофотометра Cary 3500 Multicell. Это значит, что все стандарты и пробы измерялись одновременно и в абсолютно одинаковых условиях.

После записи спектра шести стандартов и одной пробы для каждой кюветы определялась оптическая плотность на длине волны 296 нм. Из полученных данных строилась калибровочная кривая и рассчитывалась концентрация ацетилсалициловой кислоты в таблетке. Полученная концентрация салициловой кислоты из таблетки аспирина была равна 7,755 мг/л (77,55 мг/л с учетом разбавления). Эта концентрация соответствует содержанию в таблетке 101,15 мг ацетилсалициловой кислоты (рис. 4).



Рис. 4. ПО APM Cary UV с калибровочной кривой салициловой кислоты (вверху в центре) и соответствующие спектры стандартов (внизу в центре) и таблетки (внизу справа). Слева приведены линейное уравнение и коэффициент корреляции, а также исходные значения оптической плотности при 296 нм

www.agilent.com/chem

Информация в этом документе может быть изменена без уведомления.

© Agilent Technologies, Inc., 2019
Напечатано в США 12 августа 2019 г.
5994-1206RU

Известная масса таблетки позволяет рассчитать относительное содержание ацетилсалициловой кислоты. Масса таблетки аспирина с низким содержанием действующего вещества была равна 163,7 мг. Полученная в ходе анализа масса ацетилсалициловой кислоты в таблетке составляла 101,15 мг, или 61,70% массы таблетки.

Выводы

Была куплена и подвергнута основному гидролизу доступная на рынке таблетка аспирина. Из полученного раствора была определена концентрация салициловой кислоты и тем самым — концентрация ацетилсалициловой кислоты. Была построена калибровочная кривая салициловой кислоты. Все стандарты и пробы анализировались одновременно. Этот подход позволил избавиться от потенциальной приборной погрешности, погрешности оператора и погрешности из-за факторов окружающей среды, которые могли бы повлиять на результаты. Определенная масса ацетилсалициловой кислоты в таблетке составляла 101,15 мг, или 61,70% массы таблетки.

Мультикюветный спектрофотометр Cary 3500 Multicell — это новый способ добиться целостности данных путем одновременного измерения проб, стандартов и контрольных образцов. Эта возможность позволяет избавиться от влияния переменных факторов окружающей среды и оператора и от опасности, которую они представляют для точности измерений.

Литература

1. Erkan D, Harrison MJ., Levy R., Peterson M., Petri M., Sammiriatno L., Unalp-Arida A., Vilela Y., Yazici Y., Lockshin MD. Aspirin for primary thrombosis prevention in the antiphospholipid syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial in asymptomatic antiphospholipid antibody-positive individuals, *Arthritis Rheum*, **2007**, 7, 2382-91.
2. Wang Y., Xu P., Li X., Nie K., Tuo M., Kong B., Chen J. Monitoring the hydrolyzation of aspirin during the dissolution testing for aspirin delayed-release tablets with a fiber-optic dissolution system, *J Pharm Analysis*, **2012**, 2, 386–389.