STEQ 20 anos

ARTIGO TÉCNICO

Análise quantitativa usando espectroscopia Raman em aplicações farmacêuticas

HORIBA Scientific

1 Usando a espectroscopia Raman em aplicações farmacêuticas

Maruda Shanmugasundaram
Eunah Lee

Resumo: A espectroscopia Raman é reconhecida como poderoso método analítico para química qualitativa de análise. O que se desconhece é que sob certas condições, a espectroscopia Raman também pode ser um método eficaz para análise quantitativa. Aqui demonstramos essa capacidade para análise quantitativa sob uma variedade de condições, envolvendo diferentes soluções e suas aplicações em análises farmacêuticas como uniformidade de conteúdo.

Introdução

A espectroscopia Raman é geralmente reconhecida como uma poderosa técnica analítica que é usada para estudar a composição química dos materiais dentro do contexto de análise qualitativa. Não obstante, sob certas condições a espectroscopia Raman também pode ser um método eficaz método para análise quantitativa. Com líquido e amostras, a espectroscopia Raman permite realizar análise quantitativa rápida, não destrutiva e com mínimo de preparação da amostra. A espectroscopia Raman fornece informações químicas diretas sobre analitos, além de informações quantitativas. Além disso, o desenvolvimento de espectrômetros Raman de bancada compactos e de baixo custo tornou possível realizar tais análises em praticamente qualquer local, desde um laboratório de graduação em química até em um ambiente industrial.

Aqui usamos a espectroscopia Raman para realizar a análise quantitativa de uma solução simples que consiste em um soluto dissolvido em água, uma mistura azeotrópica de dois líquidos (água e etanol) e uma solução complexa consistindo em vários solutos dissolvidos em um tampão. Nós mostram que a espectroscopia Raman pode ser usada para produzir curvas de calibração para prever a concentração de complexas soluções, que podem então ser usadas para prever corretamente concentrações (ou dosagens) de APIs (ativos farmacêuticos ingredientes) em produtos farmacêuticos (por exemplo, Excedrin®, NyQuil® e DayQuil®).

2 Usando a espectroscopia Raman em aplicações farmacêuticas

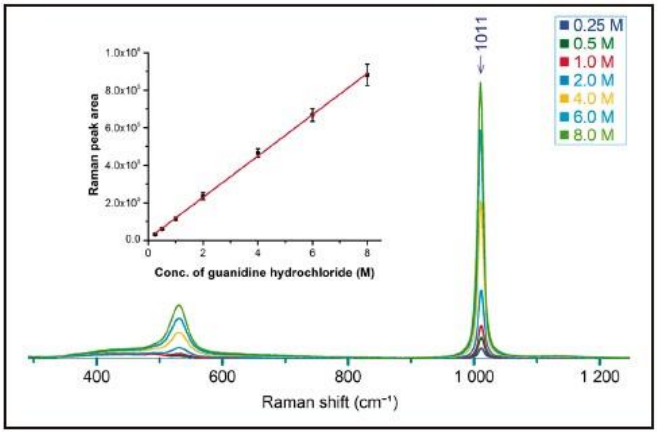

Figura 1: Espectros Raman de 0,25, 0,50, 1,0, 2,0, 4,0, 6,0 e 8,0M de cloridrato de guanidina. A inserção mostra uma curva de calibração entre 1011 cm-1 da área do pico e da concentração.

Uma solução simples

Em um trabalho anterior, discutimos o desenvolvimento de uma curva de calibração para análise quantitativa usando espectroscopia Raman em uma solução simples de um soluto (cloridrato de guanidina) e um solvente (água). Espectros Raman foram coletados de cloridrato de guanidina nas seguintes concentrações: 0,25, 0,50, 1,0, 2,0, 4,0, 6,0 e 8,0 M (Figura 1). A banda Raman em 1011 cm-1 foi selecionada como faixa marcadora para representar o cloridrato de guanidina. A faixa marcadora foi instalada com uma curva G+L (Gaussiana+Lorentziana), e o pico da área foi calculada. O pico das áreas foram calculadas em três conjuntos de medidas e foram plotados em função da concentração. Como mostrado na Figura 1, uma dependência linear da área do pico na concentração foi obtido a partir das medições, com pico reproduzível valores de área para cada concentração. O desvio padrão entre os três conjuntos de dados foi considerado extremamente pequeno em comparação com a diferença de valor entre os dados pontos, produzindo assim uma curva de calibração confiável.

Neste artigo, expandimos a discussão para soluções e misturas mais complexas.

Outra solução simples

Dissolvemos o paracetamol em pH 2,4 HCl a 37 oC e preparamos uma série de soluções em concentrações de 0,5 a 2,5 mg/ml. Os espectros Raman foram registrados em medições em triplicado. A banda Raman em 1330 cm-1 foi selecionada como banda marcadora. A área do pico da banda marcadora foi medida após a subtração da linha de base e plotada em função da concentração. Como pode ser visto na Figura 2, foi observada uma dependência linear da área do pico na concentração de paracetamol.

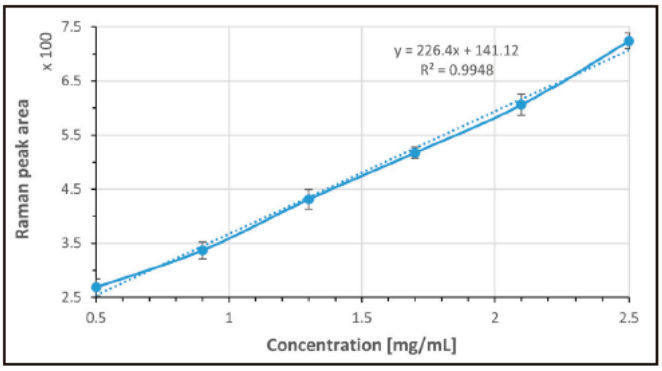

Figura 2: A área de pico da banda marcadora em 1330 cm-1 de paracetamol foi usada para desenvolver uma curva de calibração na faixa de 0,5 – 2,5 mg/ml. Cada ponto de dados foi calculado a partir de 3 medições e barras de erro indicando desvio padrão são mostradas, bem como linhas de tendência lineares (pontilhadas) juntamente com equações de linha.

Aplicação da Curva de Calibração

Usamos dosagens líquidas DayQuil™ Cold & Flu e NyQuil™ Cold & Flu como sistemas modelo para aplicar a curva de calibração. DayQuil™ Cold & Flu contém 650 mg de paracetamol em dose de 30 ml. NyQuil™ Cold & Flu contém 325 mg de paracetamol em dose de 15 ml. (2) Três alíquotas de cada dosagem foram diluídas 10 vezes antes de medir os espectros Raman (Figura 3). Espera-se que a concentração da dosagem diluída seja de aproximadamente 2,17 mg/ml.

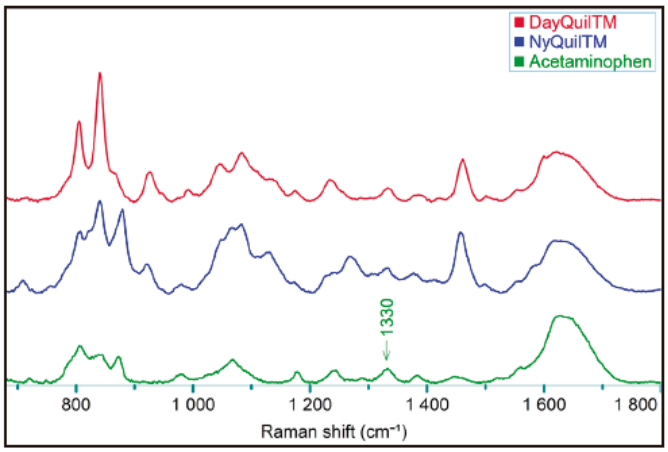

Figura 3: Espectros Raman de DayQuil™, NyQuil™ e paracetamol (Sigma-Aldrich, 2,5 mg/mL em HCl)

3 Usando a espectroscopia Raman em aplicações farmacêuticas

Os espectros Raman das diluições DayQuil™ e NyQuil™ foram registrados com uma sonda de imersão (Figura 4), imitando o método de medição de um lote de mistura ou dissolução.

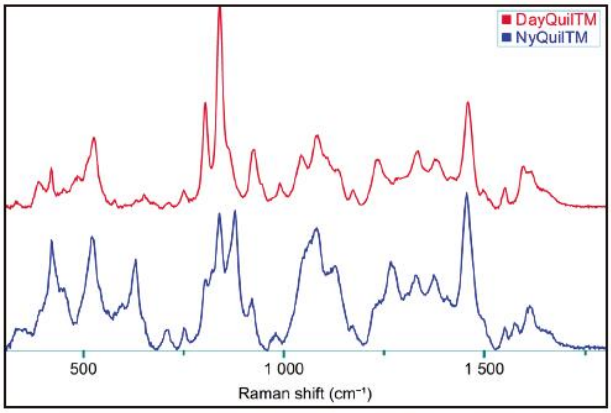

Figura 4: Espectros Raman de DayQuil™ e NyQuil™ coletados com uma sonda de imersão acoplada por fibra ao espectrômetro Raman MacroRAM™ e uma imagem da configuração da sonda de imersão.

Usando a curva de calibração desenvolvida (esquerda, Figura 2) e as áreas de pico das bandas Raman em ~1330 cm-1 nos espectros Raman DayQuil™ e NyQuil™, as concentrações de paracetamol foram previstas como 2,37 mg/ml e 1,91 mg/ml, respectivamente. Observe que esses resultados são de análise univariada usando uma área de pico e baseados em uma curva de calibração desenvolvida a partir de paracetamol puro.

Uma mistura complexa

A espectroscopia Raman também pode ser usada para análise quantitativa de misturas complexas, como misturas de água e etanol. Água e etanol, quando misturados, resultam em uma contração de volume (volume da mistura <soma dos volumes dos componentes) devido à maior ligação de hidrogênio. O grau de contração depende de forma não linear da relação entre os componentes individuais. Isso complica a curva de calibração.

As misturas foram feitas com etanol peso/peso (%)1 de 0, 10, 30, 50, 70, 90 e 100%. Os espectros Raman foram registrados em cada porcentagem, e a média dos dados foi calculada a partir de 5 repetições (Figura 5). O pico de 884 cm-1 do etanol foi selecionado como banda marcadora para o etanol (Figura 5), e a área do pico foi calculada usando análise univariada. As áreas dos picos foram então plotadas em função do etanol peso/peso (%), etanol vol/vol (%)2 e molaridade do etanol3 (Figura 6).

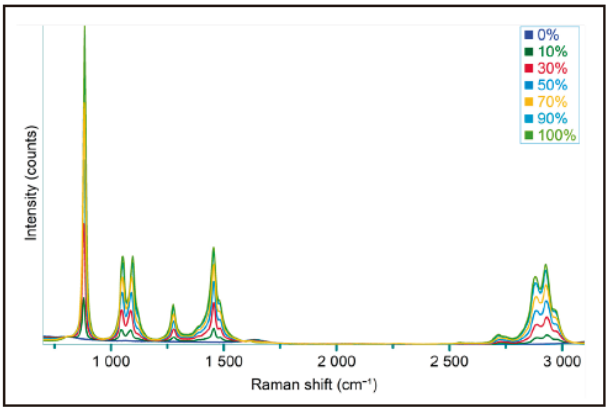

Figura 5: Espectros Raman registrados a partir de uma série de misturas de etanol-água, com porcentagem de etanol em peso/peso (%) variando de 0 a 100%. A área do pico do etanol de 884 cm-1 (inserção) foi usada para construir uma curva de calibração.

Uma relação linear é frequentemente assumida entre a concentração e a intensidade do espectro. No entanto, isso nem sempre é verdade para soluções complexas com múltiplos solutos e misturas como etanol e água. A relação e, portanto, a curva de calibração variam dependendo da unidade de concentração, que muitas vezes é escolhida por conveniência e convenção.

As áreas de pico da banda do marcador de etanol mostram uma relação linear em relação às concentrações de etanol em vol/vol (%) (Figura 6a) e molaridade (Figura 6b), resultando em curvas de calibração lineares. A relação em relação ao peso/peso (%) está mais próxima do polinômio de 2ª ordem (Figura 6d) do que linear (Figura 6c). Isso ocorre porque a contração volumétrica das misturas não é linear. (3) (4) A contração do volume é maior quando o peso/peso (%) está mais próximo de 50% (por exemplo, 30%, 50% e 70%) do que líquidos mais puros (por exemplo, 0%, 10%, 90%, 100 % etanol). Isto demonstra que curvas de calibração confiáveis podem ser produzidas usando espectroscopia Raman mesmo para soluções e misturas mais complexas, e essas curvas de calibração podem ser complexas de acordo.

4 Usando a espectroscopia Raman em aplicações farmacêuticas

Relação semelhante entre o microambiente de um determinado grupo molecular e suas vibrações foi relatada.

Uma solução complexa

A espectroscopia Raman também pode ser usada para análise quantitativa de soluções complexas contendo múltiplos solutos em solução. Preparamos soluções estoque dissolvendo aspirina, paracetamol e cafeína em pH 2,4 HCl a 37 oC para atingir ~ 3,5 mg/ml adicionando lauril sulfato de sódio (SLS). Preparamos três conjuntos equivalentes de soluções preparando três soluções estoque (Tabela 1) e depois diluindo cada solução estoque em sucessão.

Os espectros Raman foram registrados em medições triplicadas de cada solução. Bandas Raman em 1043 cm-1, 870 cm-1, e 565 cm-1 foram selecionados como bandas marcadoras para aspirina, paracetamol e cafeína, respectivamente. Áreas de pico de as bandas marcadoras, após a subtração da linha de base, são plotadas em relação às concentrações correspondentes do material (Figura 7). Todos os três solutos mostram relações lineares em relação às suas concentrações.

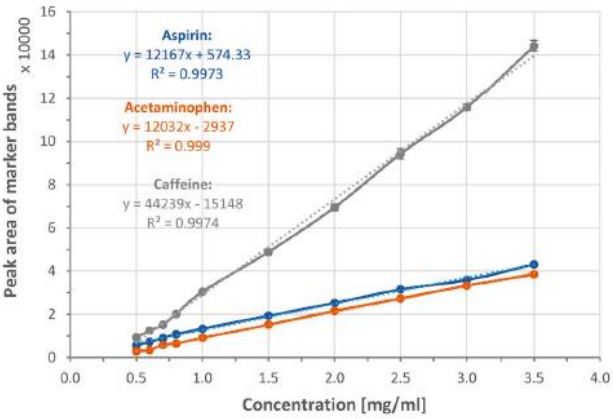

Figura 7: Curvas de calibração e linhas de tendência linear (linhas pontilhadas) mostrando área de pico de 1.043 cm-1, 870 cm-1 e 565 cm-1, bandas marcadoras de aspirina, paracetamol e cafeína, respectivamente, plotadas em relação ao material correspondente concentração. Cada ponto de dados foi calculado a partir de 3 medições. Barras de erro indicam desvios padrão. As linhas pontilhadas são linhas de tendência. Suas equações e valores de R2 são mostrados no gráfico.

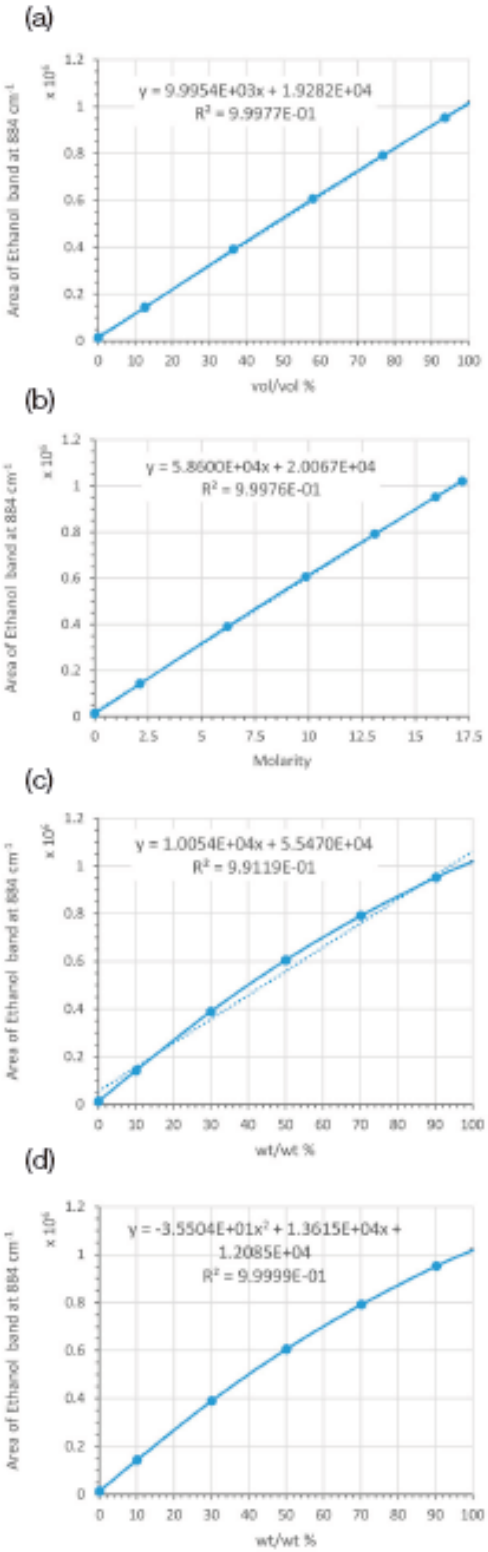

Figura 6: Curvas de calibração utilizando a banda marcadora do etanol a 884 cm-1 e diferentes unidades de concentração: (a) vol/vol % e (b) molaridade; (c) e (d) % peso/peso. Cada ponto de dados foi calculado a partir de 5 medições. Barras de erro indicam desvios padrão. As linhas pontilhadas são linhas de tendência. Suas equações e valores de R2 são mostrados no gráfico.

5 Usando a espectroscopia Raman em aplicações farmacêuticas

Aplicação de Curvas de Calibração

A espectroscopia Raman também pode ser usada para prever as concentrações de ingredientes farmacêuticos ativos (APIs) em um estudo de dissolução. Para demonstrar isso, escolhemos Excedrin® Extra Strength como sistema modelo.

Excedrin® Extra Strength contém três APIs: aspirina (250 mg), paracetamol (250 mg) e cafeína (65 mg) por comprimido. (6) As condições para dissolução dos comprimidos foram selecionadas para imitar a administração de uma forma de dosagem oral. (7)

O meio de dissolução foi pH 2,4 HCl (~0,01 M) a 37 oC, pois isso reflete as condições do fluido gástrico. Como a aspirina é um medicamento com baixa solubilidade em água, optamos por incluir o SLS, um surfactante para auxiliar na umectação e dissolução dos APIs. (8) O SLS é um ingrediente comumente utilizado para esse fim em formulações de medicamentos. Excedrin® Extra Strength contém outros ingredientes inativos.

Dissolvemos cada um dos quatro comprimidos de Excedrin® em 100 ml de pH ~ 2,3 HCl a 37°C durante a noite. As concentrações esperadas eram de aproximadamente 2,50 mg/ml de aspirina e paracetamol e de aproximadamente 0,65 mg/ml de cafeína após dissolução completa. Deve-se notar que o comprimido não se dissolveu completamente. Dissolveu-se parcialmente, deixando um fino precipitado branco no fundo. Nós assumimos estes resíduos são ingredientes inativos, como a celulose, porque estabelecemos que aspirina, paracetamol e cafeína solubilidades em HCl excedem ~3 mg/ml em um estudo separado.

Os espectros Raman foram registados a partir de 3 alíquotas retiradas da porção dissolvida. Bandas Raman em 1043 cm-1, 870 cm-1 e 565 cm-1 foram selecionados como faixas marcadoras para aspirina, paracetamol e cafeína, respectivamente. Pico áreas dessas bandas marcadoras, após a subtração da linha de base, foram medidos. Qualquer contribuição espectral nesta faixa de ingredientes inativos foram considerados insignificantes, porque a massa coletiva de APIs constitui mais de 80% da massa do comprimido. Dosagens de APIs foram previstas (Tabela 2) usando curvas de calibração linear obtidas acima (Figura 7) e pesos dos comprimidos.

	Aspirin	Acetaminophen	Caffeine
Tablet 1	240 mg	246 mg	66 mg
Tablet 2	239 mg	251 mg	67 mg
Tablet 3	241 mg	243 mg	66 mg
Tablet 4	242 mg	237 mg	67 mg

Tabela 2: Dosagens estimadas de API por comprimido de Excedrin® Extra Strength.

Conclusão

Nós demonstramos que a espectroscopia Raman pode ser usado para realizar análises qualitativas e quantitativas análise de materiais. Nesta nota de aplicação, temos mostrado vários exemplos de como isso pode ser aplicado para vários sistemas. Espectros Raman medidos em uma faixa de concentrações de um sal como o cloridrato de guanidina produziu uma dependência linear do sinal. Mais complexo soluções como misturas de etanol e água foram testado, onde diferentes graus de ligação de hidrogênio dependendo de diferentes proporções de componentes individuais volumes levam à contração de volume. Dependendo do unidade de concentração, a curva de calibração pode ser linear ou polinômio. Finalmente, curvas de calibração foram construídas a partir de aspirina, paracetamol e cafeína e aplicadas a produtos farmacêuticos como Excedrin®, DayQuil™ e NyQuil™. Esperamos que isso seja útil tanto em estudos de testes de dissolução quanto em estudos em processos e sistemas analíticos.

Referências

1. Quantitative Analysis Using Raman Spectroscopy. [Online] https://static.horiba.com/fileadmin/Horiba/Products/Scientific/Molecular_and_Microanalysis/MacroRAM/RA-TN05-Quantitative_Analysis_using_Raman_Spectroscopy_MacroRAM

2. DayQuil™/NyQuil™ Cold & Flu Relief Liquid Co-Pack. [Online]https://vicks.com/en-us/shop products/dayquil/dayquil-nyquil-cold-flu-reliefliquid-co-pack.

3. Washburn, E. Roger. The measurement of change in volume on solution. Journal of Chemical Education. 1929, Vol. 6, 6, p. 1144.

4. Il Lee, Keunhan Park, Jungchul Lee. Precision density and volume contraction measurements of ethanol–water binary mixtures using suspended microchannel resonators. Sensors and Actuators A: Physical. 2013, Vol. 194, pp. 62-66.

5. Pelletier, M. J. Quantitative Analysis Using Raman Spectrometry. Appl Spectroscopy. 2003, Vol. 57, 1, pp. 20A-42A.

6. EXCEDRIN® EXTRA STRENGTH HEADACHE RELIEF. [Online] https://www.excedrin.com/products/extra-strength/.

7. Qureshi, S. Drug Dissolution Testing: Selecting a Dissolution Medium for Solid Oral Products. American Pharmaceutical Review. 2008.

8. Jannes van der Merwe, Jan Steenekamp, Dewald Steyn and Josias Hamman. The Role of Functional Excipients in Solid Oral Dosage Forms to Overcome Poor Drug Dissolution and Bioavailability. Pharmaceutics. 2020, Vol. 12, 5, p. 393.

STEQ 20 anos