



Gehaltebepaling morfine HCl.3H₂O in zetpillen

met behulp van tweede afgeleide UV spectrometrie

Francis van Hoof en Rick Langen
TweeSteden ziekenhuis Tilburg,
Laboratorium Ziekenhuisapotheek
Midden-Brabant,
Dr. Deelenlaan 5, 5042 AD Tilburg.
013-4655662

Inleiding

Morfine behoort tot de groep van narcotische analgetica. Morfine grijpt aan op de opiaatreceptoren, waardoor pijnperceptie en de emotionele respons op de pijn verandert. Deze receptoren zijn ongelijkmatig verdeeld over het centrale zenuwstelsel. De pijnstillende werking is sterk en tevens wordt het bewustzijn verlaagd. Gezien de ernst en de frequentie van de bijwerkingen komt morfine vooral in aanmerking voor de bestrijding van hevige, acute pijn en voor de bestrijding van hevige chronische pijn bij patiënten in het terminale stadium van een pijnlijke ziekte. Morfine is in sterke mate onderhevig aan 'first pass' eliminatie door enzymatische inactivering in darmwand en lever. De biologische beschikbaarheid na orale toediening is door dit effect ongeveer 30%. Na subcutane en intramusculaire toediening is de absorptie goed, na rectale toediening variabel en onvolledig [1]. De rectale toediening kan worden gebruikt wanneer een patiënt moeilijk kan slikken. Voor gehaltebepalingen in de farmaceutische kwaliteitscontrole wordt in het laboratorium van de ziekenhuisapotheek Midden-Brabant (ZAMB) bij voorkeur gebruik gemaakt van UV spectrometrie. Hierbij wordt de E1%1cm waarde van de bijbehorende grondstof als standaard gehanteerd. Door de absorptiebijdrage van de hulpstoffen in de zetpil, in combinatie met een lage concentratie morfine, is een gehaltebepaling van morfine met een directe UV absorptie meting niet

mogelijk. Een UV meting is wel mogelijk als de hulpstoffen van morfine worden gescheiden. Denk hierbij aan chromatografische technieken of extractie: Deze technieken nemen echter een aanzienlijke hoeveelheid tijd in beslag en de extra handelingen werken fouten in de hand. Het LNA voorschrift geeft de mogelijkheid van een titrimetrische gehaltebepaling met perchloorzuur als titrant [2].

Door gebruik te maken van het tweede afgeleide UV spectrum is een gehaltebepaling met UV spectrometrie wel mogelijk. Het maximale verschil tussen top en dal, in een gedefinieerd golflengte bereik, van het tweede afgeleide spectrum is een maat voor de concentratie. Het gehalte van een zetpil morfine HCl.3H₂O wordt bepaald met behulp van een standaard oplossing morfine HCl.3H₂O [2,3,4].

Materiaal en apparatuur

De volgende reagentia worden gebruikt: dichloormethaan z.A. (J.T. Baker), ethanol 96% (apotheek), azijnzuur 96% P.A. (Merck). Uit deze reagentia wordt het oplosmiddel voor de zetpillen en standaard samengesteld: dichloormethaan:ethanol 96%:azijnzuur 96%; 10:10:2 (v/v). Morfine HCl.3H₂O wordt geleverd door Bufa B.V. (Europese Farmacopee kwaliteit). De metingen zijn uitgevoerd in een 1 cm kwarts cuvet (Fisher Sci.) op een Varian Cary 1E UV-VIS spectrofotometer. Voor de gehaltebepaling met tweede afgeleide UV spectrometrie werd in de Cary software (versie 3.0) een Applications Development Language (ADL) programma geschreven. De gebruikte centrifuge is een Hettich Rotanta/RP.

Monstervoorbereiding

Standaard: los 100 mg Morfine HCl.3H₂O op in 100,0 mL oplosmiddel [1 mg/mL].

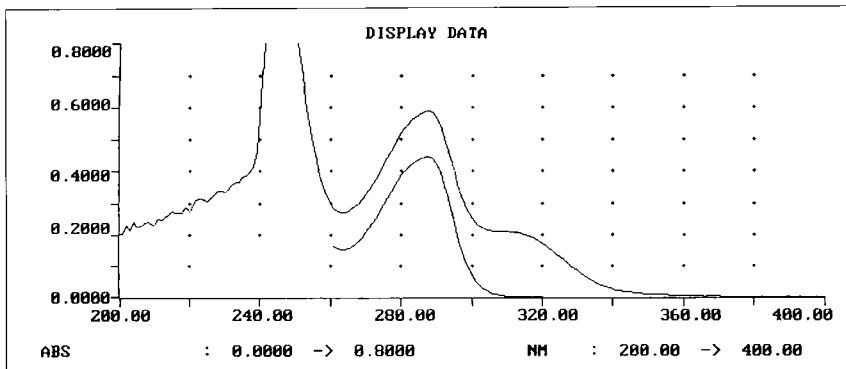
Verdun 1,0 mL van deze oplossing naar 10,0 mL oplosmiddel [0,1 mg/mL].

Zetpil: morfine HCl.3H₂O [1 mg] zetpil. Breng de zetpil kwantitatief over in een maatkolf van 10 mL. Los de zetpil op en vul aan met oplosmiddel [0,1 mg/mL]. Centrifugeer de oplossing 10 minuten bij 4000 rpm. Gebruik de bovenstaande heldere vloeistof voor de gehaltebepaling.

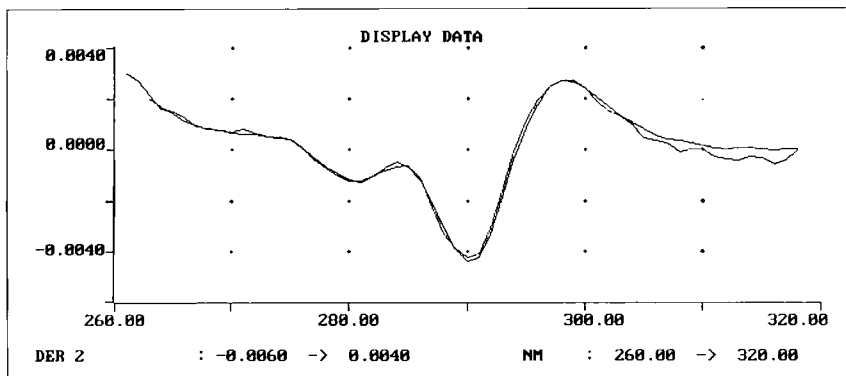
Zetpil: morfine HCl.3H₂O [5 mg] zetpil. Breng de zetpil kwantitatief over in een maatkolf van 50 mL. Los de zetpil op en vul aan met oplosmiddel [0,1 mg/mL]. Centrifugeer de oplossing 10 minuten bij 4000 rpm. Gebruik de bovenstaande heldere vloeistof voor de gehaltebepaling. Zetpil: morfine HCl.3H₂O [30 mg] zetpil. Breng de zetpil kwantitatief over in een maatkolf van 50 mL. Los de zetpil op en vul aan met oplosmiddel [0,6 mg/mL]. Centrifugeer de oplossing 10 minuten bij 4000 rpm. Verdun 2,0 mL van deze oplossing naar 10,0 mL oplosmiddel [0,12 mg/mL]. Gebruik de verdunning voor de gehaltebepaling.

Tweede afgeleide UV-spectrometrie

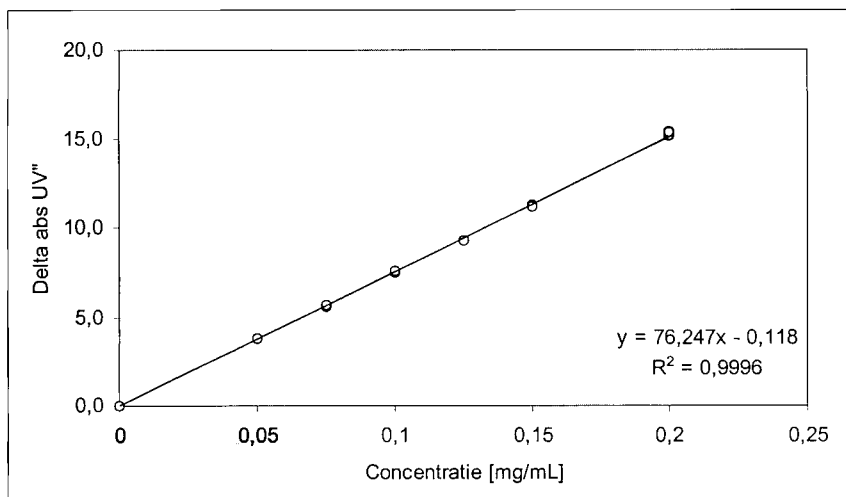
Van de standaard en monsters wordt het tweede afgeleide UV-spectrum opgenomen tegen het oplosmiddel als blanco. Het golflengtegebied omvat 260 tot 320 nm. Bepaal het absorptie verschil tussen top (298 nm) en dal (290 nm) van het tweede afgeleide UV-spectrum (Δ abs 298-290 nm UV^{''}). De berekening van het gehalte morfine HCl.3H₂O (in % ten opzichte van het gedeclareerde gehalte) is gegeven in vergelijking 1 (hiernaast).



Figuur 1: UV spectra van de standaard 0,1 mg/mL morfine HCl.3H₂O (onder) en van een 1 mg zetpil morfine HCl.3H₂O (boven).



Figuur 2: Tweede afgeleide UV spectra (UV'') van de standaard morfine HCl.3H₂O (boven) en van 1 mg zetpil morfine HCl.3H₂O (onder).



Figuur 3: Ijklijn met de standaardconcentraties morfine HCl.3H₂O: 0,050 - 0,075 - 0,100 - 0,125 - 0,150 - 0,200 mg/mL (n=2).

$$\text{Morfine HCl.3H}_2\text{O [\%]} = \frac{\text{Monster } \Delta \text{ abs } 298 - 290 \text{ nm UV}''}{\text{Standaard } \Delta \text{ abs } 298 - 290 \text{ nm UV}'' \times F} \times 100\%$$

Vergelijking 1.

Vergelijking 1: Berekening van het gehalte morfine HCl.3H₂O m.b.v. tweede afgeleide UV-spectrometrie.

F = Correctiefactor voor verschil in standaard en monsterconcentratie.

F = 1 voor zetpil morfine HCl [1 mg] en [5 mg].

F = 1,2 voor zetpil morfine HCl [30 mg].

In figuur 1 zijn de UV spectra van de standaard morfine HCl.3H₂O en van 1 mg zetpil morfine HCl.3H₂O gegeven. Uit dit figuur blijkt dat een gehaltebepaling met directe UV meting niet mogelijk is. In figuur 2 zijn de tweede afgeleide UV spectra (UV'') van de standaard morfine HCl.3H₂O en van 1 mg zetpil morfine HCl.3H₂O gegeven. De storing door de hulpstoffen in de zetpillen is verdwenen.

Validatie

De validatie is van de methode is uitgevoerd volgens richtlijnen van de Food and Drug Administration (FDA) [5]. De lineariteit van de ijklijn is met lineaire regressie analyse getest met de standaardconcentraties 0,050 - 0,075 - 0,100 - 0,125 - 0,150 - 0,200 mg/mL (n=2). In figuur 3 is de ijklijn weergegeven. De juistheid, herhaalbaarheid en reproduceerbaarheid van de analyse methode zijn bepaald voor de zetpillen 1 - 5 - 30 mg morfine HCl.3H₂O (n=6). De juistheid dient bepaald te worden met een analytisch referentiemonster of ten opzichte van een andere analysemethode als referentie. In dit geval is de juistheid bepaald met behulp van een proefcharge zetpillen van 1, 5 en 30 mg morfine HCl.3H₂O bereid door de productieafdeling van de ZAMB. De validatie gegevens zijn gegeven in tabel 1 (zie volgende pagina).

Conclusie

Tweede afgeleide UV-spectrometrie is een geschikte analysemethode voor de farmaceutische kwaliteitscontrole van morfine HCl.3H₂O zetpillen. De methode is snel en een-

Tabel I: Validatie gegevens

Zetpil morfine HCl.3H ₂ O	1 mg	5 mg	30 mg
Juistheid (%)	95,1	99,9	108,1
Herhaalbaarheid (VC %)	0,8	0,9	0,8
Reproduceerbaarheid (VC %)	1,7	1,4	6,2
Lineariteit 0,05 – 0,20 mg/mL	F[GOF(1,10)]:>9000	F[LOF(4,6)]: 5,00	R ² 0,9996

voudig. Nadeel van de methode is dat er tijdens de monstervoorbereiding gebruik wordt gemaakt van organische oplosmiddelen welke gezondheid en milieu schaden. Belangstellenden kunnen via e-mail GJdBijl@zamb.tsz.nl het ADL programma opvragen [6].

Literatuur

1. Informatorium Medicamentorum, 2001, WINAp/KNMP. ISBN:90-70605-68-6. p25-6,31-2.
2. LNA voorschriften, KOMBI/rom april 2001.
3. Weda M. Analyse van farmaceutische preparaten met behulp

van tweede-afgeleide-UV-spectrometrie. Pharm Weekbl 1996; 131:1078-81.

4. Graaf de, A.I. Tweede afgeleide UV-spectrometrie in de farmaceutisch analyse. Stageverslag KNMP, 1990.
5. <http://www.fda.gov/cder/guidance/2396dft.htm> Guidance for Industry; Analytical Procedures and Methods Validation.
6. Hoof van, F.W.J.M. ZAMB: SOP 655-mor-p-uv: 'Morfine HCl in zetpillen m.b.v. tweede afgeleide UV/VIS spectrofotometrie'.