

Análisis cuantitativo de comprimidos de warfarina con impurezas salinas mediante espectroscopia Raman de transmisión



Autor

Julia Griffen
Agilent Technologies, Inc.

Resumen

Esta nota de aplicación muestra cómo se puede usar la espectroscopia Raman de transmisión (TRS) para la cuantificación de warfarina en comprimidos intactos de producto farmacéutico al 0,5 % p/p con un tiempo de medida de 20 segundos¹. La TRS puede diferenciar y cuantificar dos formas de warfarina sin necesidad de una etapa de preparación de muestras. Las técnicas convencionales de cromatografía no permiten hacerlo, ya que la información sobre las distintas formas farmacéuticas se pierde debido a la solvatación. La TRS permite llevar a cabo un análisis cuantitativo, rápido, automatizado y no destructivo de formas farmacéuticas sólidas completas de administración oral para determinar la uniformidad de contenido y analizar los polimorfos.

Introducción

La warfarina pura está disponible en forma de sal sódica amorfa (WS) y de clatrato cristalino (WSC). Durante el almacenamiento, el clatrato puede disociarse y transformarse en la sal sódica amorfa; sin embargo, este cambio no puede apreciarse mediante el análisis por HPLC (el resultado del ensayo es el conjunto de ambas formas). La cuantificación de las formas individuales del ingrediente farmacéutico activo (API) de una forma farmacéutica puede ser un requisito especificado

en los atributos de calidad críticos del producto. Por lo tanto, resultaría a todas luces ventajoso un método que permita cuantificar con rapidez ambas formas y, además, no sea destructivo, no requiera el uso de disolventes, no genere residuos y exija menos recursos en términos de mano de obra y materiales. En esta nota de aplicación se analizan la viabilidad de la medida de la uniformidad de contenido de la dosis mínima de warfarina (1 mg, 0,5 % p/p) y la diferenciación entre las dos formas salinas a este bajo nivel de concentración.

Experimento

La Figura 1 muestra los espectros Raman de las formas puras de warfarina. Los espectros de ambas formas son muy similares. No obstante, existen pequeñas diferencias espectrales en lo que respecta a la intensidad y la posición de los picos en las siguientes longitudes de onda:

- 680 cm^{-1}
- 818 cm^{-1}
- 1.030 cm^{-1}
- 1.420 cm^{-1}
- 1.460 cm^{-1}
- 1.635 cm^{-1}



Figura 1. Espectros Raman de transmisión para la forma sódica y el clatrato sódico de la warfarina, incluidas las diferencias espectrales.

Para poder predecir de forma precisa la concentración, se emplea un proceso de diseño de experimentos (DoE) seguido de una calibración que abarca todas las variaciones de la formulación (componentes y factores físicos). Las variantes principales utilizadas fueron el uso de tinte (que conlleva una importante contribución al espectro Raman), de distintas formas de warfarina (con concentraciones de entre el 0,35 y el 0,71 % p/p) y de lactosa, tal como se muestra en la Figura 2. Se prepararon siete comprimidos a partir de cada una de las 19 muestras de calibración.

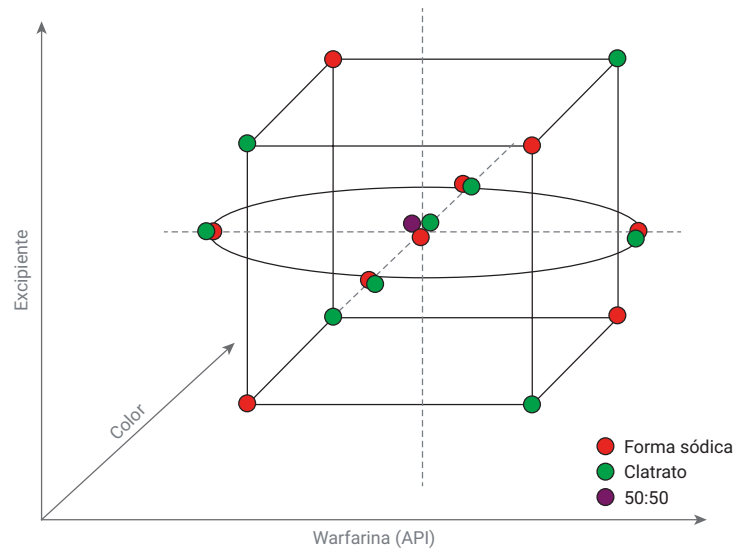


Figura 2. Diseño de experimentos (DoE) cúbico centrado con 19 muestras.

Los comprimidos se colocaron en una bandeja de medida del potenciador de haz (véase la Figura 3); después, se efectuó un barrido en un sistema Agilent TRS100 de análisis farmacéutico cuantitativo por espectroscopia Raman. Los ajustes de adquisición para las muestras fueron una potencia del láser de 650 mW (830 nm) y una acumulación total de exposición de 20 segundos por comprimido.

El potenciador de haz "recicla" la luz láser reflejada por la superficie del comprimido y la devuelve hacia este. Esto hace que una mayor cantidad de luz láser penetre a través de la muestra y consigue que la intensidad Raman de transmisión sea mayor que si no se utilizara el potenciador².

Los análisis se realizaron por triplicado, lo que dio lugar a 399 espectros (19 muestras × 7 comprimidos × 3 barridos).

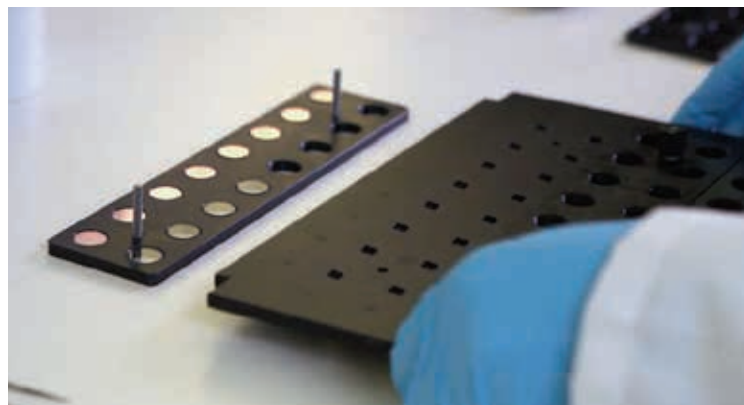


Figura 3. Conjunto de bandeja del potenciador de haz.

Resultados y comentarios

La Figura 4 muestra los espectros de calibración obtenidos.

Tras aplicar las correcciones de la línea de base y de normalización, se pudieron apreciar diferencias espectrales evidentes, provocadas por los cambios en la concentración de las sales de warfarina. La Figura 5 muestra un pico de interés de la warfarina alrededor de 680 cm^{-1} .

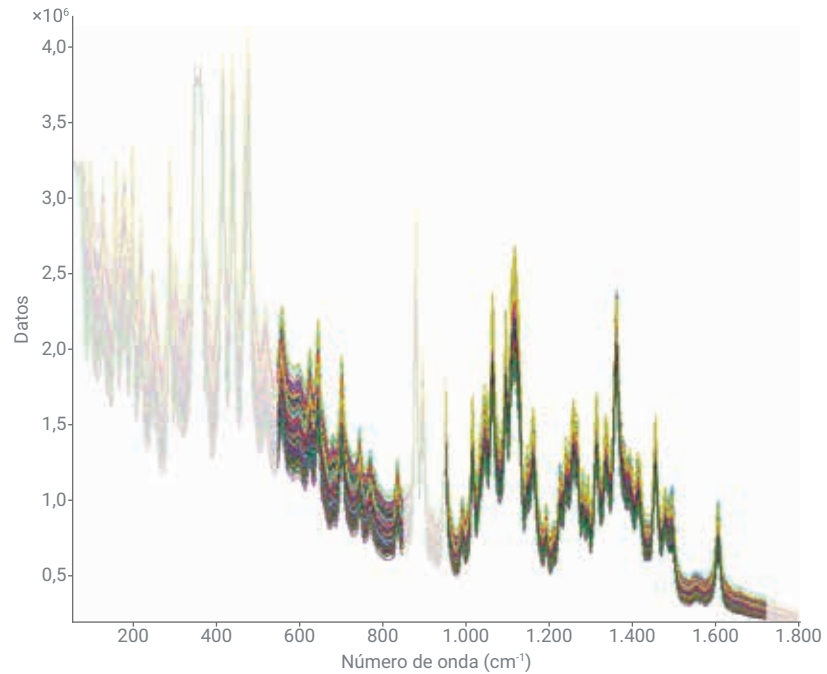


Figura 4. En la imagen se muestran los 399 espectros obtenidos por espectroscopia Raman de transmisión (TRS), junto con el rango espectral utilizado para elaborar el modelo.

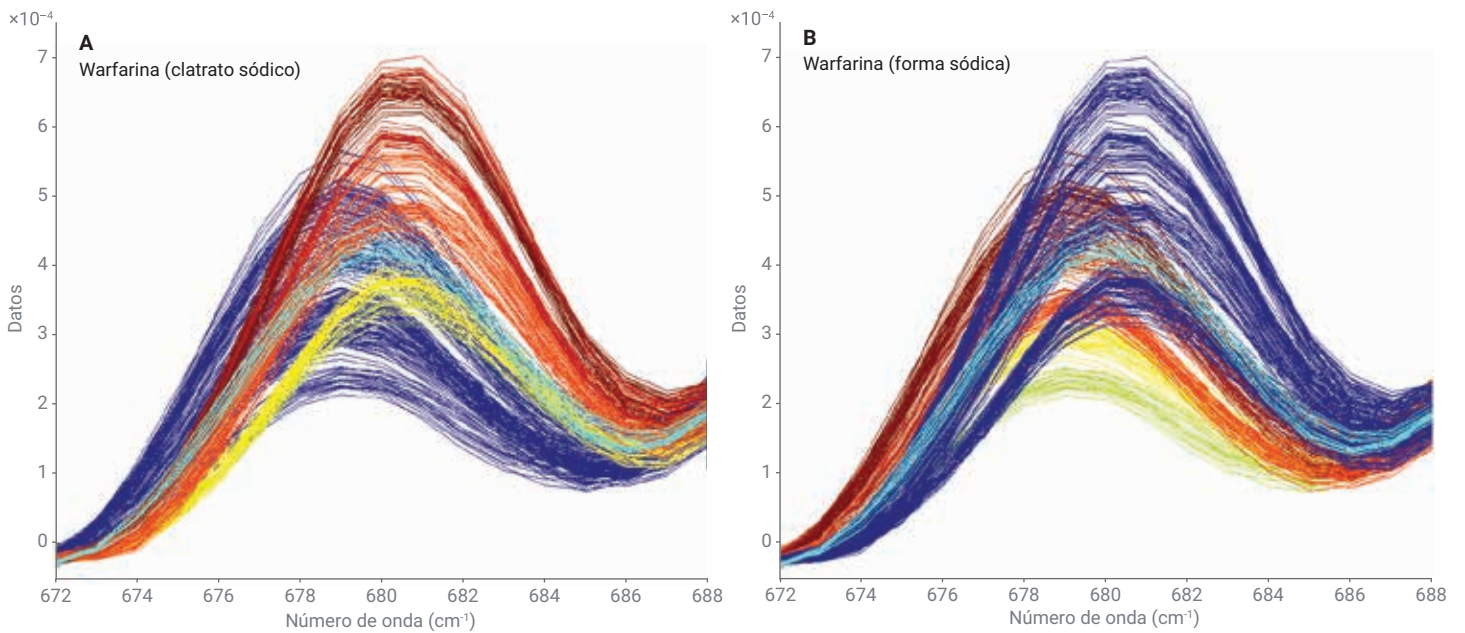


Figura 5. Detalle de una región espectral que muestra los 399 espectros de calibración coloreados en función de la concentración salina de warfarina (el color azul indica valores bajos; el color rojo, valores altos). A) El pico a 681 cm^{-1} indica cambios espectrales en la concentración de la forma de clatrato sódico de la warfarina. B) El pico a 679 cm^{-1} indica cambios espectrales en la concentración de la forma sódica de la warfarina.

La Figura 6 muestra los modelos quimiométricos de ajuste por mínimos cuadrados parciales (PLS) elaborados a partir de los espectros de calibración. Los parámetros óptimos del modelo se obtuvieron mediante un proceso de cálculo de la primera derivada, normalización y preprocesamiento de la media central en un rango espectral de 500 a 850 y 950 a 1.750 cm^{-1} . Los valores R^2 (0,99) y RMSEC y CV (0,019, en ambos casos) muestran que las características del modelo son buenas. Asimismo, los valores RMSEC y CV indican un error de calibración del $\pm 0,019\%$ p/p, que, una vez normalizado respecto a la concentración nominal, equivale a un error del modelo del 4 %.

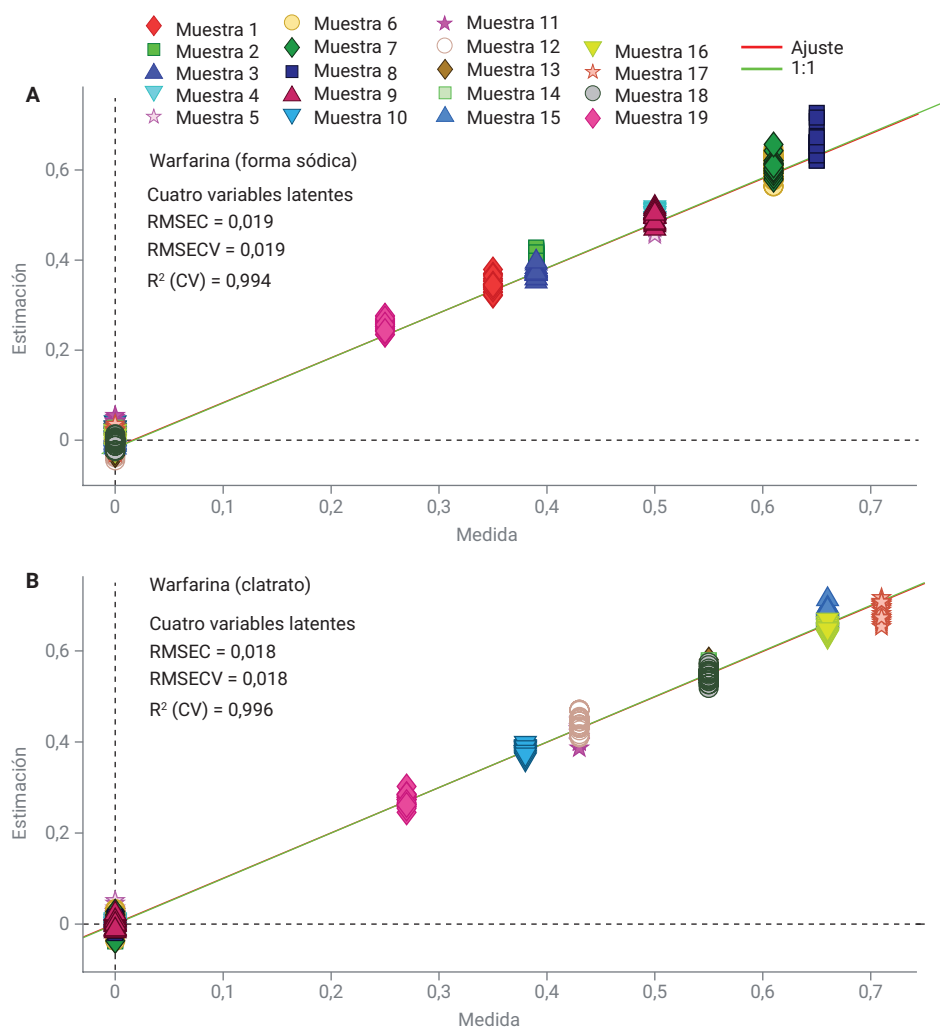


Figura 6. Modelos quimiométricos de calibración por PLS.

Los modelos se validaron usando muestras de producción y de placebo, que se esperaba que contuvieran warfarina en la forma de clatrato sódico, y no en la forma sódica (Figura 7). El valor RMSEP indica un error de estimación del ± 0.026 % p/p, que, una vez normalizado respecto a la concentración nominal, equivale a un error de estimación del 5 %.

Conclusión

Esta nota de aplicación demuestra la capacidad de la técnica para diferenciar entre las sales sódicas de warfarina en comprimidos intactos, y también para cuantificarlas con un nivel de concentración equivalente a la dosis mínima (1 mg, 0,5 % p/p) y en presencia de ambas formas.

Esta formulación resultó especialmente compleja debido a la presencia de un tinte que tiene una gran actividad en la espectroscopia Raman y cuyo contenido no era uniforme en los distintos lotes de materiales de producción; dicho tinte se solapó con el ingrediente farmacéutico activo (API) en la región comprendida entre 1.400 y 1.700 cm^{-1} . La limitación de este estudio es la validación externa del modelo utilizando muestras con una mezcla de las formas salinas. Por lo tanto, sería necesario profundizar en la investigación.

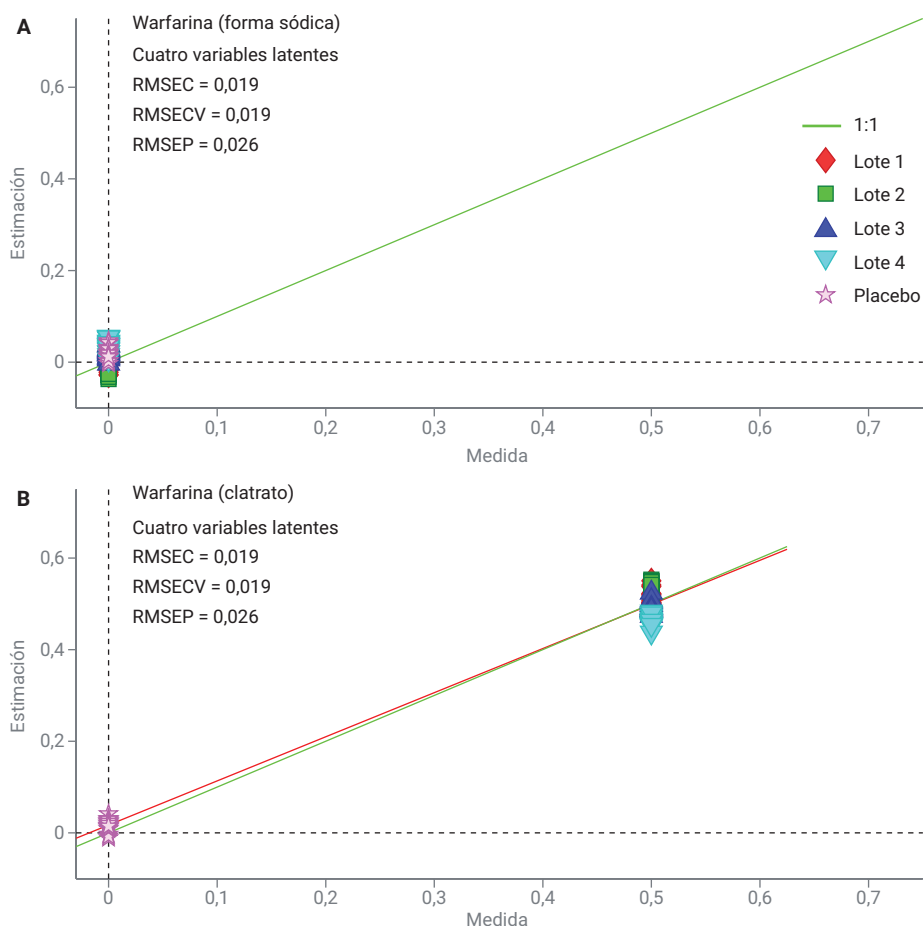


Figura 7. Muestras de validación, utilizadas para estimar los valores de las muestras de producción y de placebo.

El presente documento demuestra la capacidad de la TRS para cuantificar warfarina al 0,5 % p/p, lo que hace que pueda aplicarse en los ensayos de control de calidad de laboratorio farmacéutico para determinar la uniformidad de contenido. También puede utilizarse para la cuantificación de ambas formas, con el fin de verificar la eficacia de la forma farmacéutica del comprimido. Entre otras aplicaciones, también podría emplearse para ensayos de estabilidad que sirvan para estudiar la degradación de la WSC a WS.

Referencias

1. Griffen, J. A.; Owen, A. W.; Matousek, P. Quantifying low levels (<0.5% w/w) of warfarin sodium salts in oral solid dose forms using Transmission Raman spectroscopy, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2018**, *155*, 276-283.
2. Matousek, P. Raman signal enhancement in deep spectroscopy of turbid media. *Appl. Spectrosc.* **2007**, *61*, 845-854.

www.agilent.com/chem/raman

Esta información está sujeta a cambios sin previo aviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2019
Impreso en EE. UU., 13 de mayo de 2019
5994-0904ES

 **Agilent**
Trusted Answers