

# Analyse quantitative de comprimés de warfarine contenant des impuretés sous forme de sels à l'aide de la spectroscopie Raman en transmission



## Auteur

Julia Griffen  
Agilent Technologies, Inc.

## Résumé

Cette note d'application montre l'utilisation de la spectroscopie Raman en transmission (TRS) pour la quantification de la warfarine dans des comprimés pharmaceutiques entiers intacts à 0,5 % m/m avec un temps de mesure de 20 secondes<sup>1</sup>. La TRS peut différencier et quantifier deux formes de la warfarine sans préparation d'échantillons. Les techniques de chromatographie traditionnelles ne peuvent pas le faire, car les informations relatives aux formes sont détruites par solvatation. La TRS permet de faire une analyse rapide, automatisée, non destructive et quantitative des formes de doses solides orales pharmaceutiques pour avoir une uniformité de teneur et une analyse polymorphe.

## Introduction

La warfarine pure est disponible sous forme de sel de sodium amorphe (WS) et sous forme de clathrate cristallin (WSC). Lors du stockage, la forme de clathrate peut se dissocier en sel de sodium amorphe, et ce changement est impossible à distinguer par HPLC (les deux formes contribuent au résultat de l'analyse). La quantification des formes individuelles d'un principe actif (API) dans une analyse peut faire partie de

l'attribut qualité critique du produit. Il est bénéfique d'avoir une méthode de quantification des deux formes rapide, non destructive, n'utilisant pas de solvant, ne générant aucun déchet et nécessitant moins de ressources en personnel et en matériel. Cette note d'application examine la viabilité de la mesure de la warfarine à la dose la plus faible (1 mg, 0,5 % m/m) pour une uniformité de teneur, et de la différenciation des deux formes de sel à cette faible teneur.

## Données expérimentales

La Figure 1 montre les spectres Raman des formes pures de la warfarine. Les deux formes présentent des spectres très similaires. Il existe des différences spectrales subtiles dans le positionnement et l'intensité des pics à :

- 680  $\text{cm}^{-1}$
- 818  $\text{cm}^{-1}$
- 1 030  $\text{cm}^{-1}$
- 1 420  $\text{cm}^{-1}$
- 1 460  $\text{cm}^{-1}$
- 1 635  $\text{cm}^{-1}$



Figure 1. Spectres Raman de transmission du sodium de warfarine et du clathrate de sodium de warfarine, avec différences spectrales calculées.

Une prévision précise de la concentration utilise un étalonnage suivant un processus de conception d'expériences (DoE) couvrant toutes les variations de la formulation (composants et facteurs physiques). Les principales variantes utilisées étaient le colorant (forte contribution Raman), les formes de la warfarine (de 0,35 à 0,71 % m/m) et le lactose, comme illustré sur la Figure 2. Sept comprimés compacts ont été pressés à partir de chacun des 19 échantillons d'étalonnage.

Des comprimés ont été placés à l'intérieur d'un plateau de mesure à amplificateur de faisceau (voir Figure 3) et scannés dans un système d'analyse pharmaceutique quantitative Agilent TRS100 Raman. Les paramètres d'acquisition pour les échantillons étaient une puissance laser de 650 mW (830 nm) et une durée totale d'accumulation de 20 secondes par comprimé.

L'amplificateur de faisceau recycle la lumière laser réfléchiée par la surface du comprimé vers l'intérieur du comprimé. Par conséquent, une plus grande quantité de lumière laser traverse l'échantillon, ce qui entraîne une intensité Raman de transmission plus élevée que sans l'amplificateur<sup>2</sup>.

Les résultats ont été obtenus en triplicat, donnant 399 spectres (19 échantillons x 7 comprimés x 3 balayages).

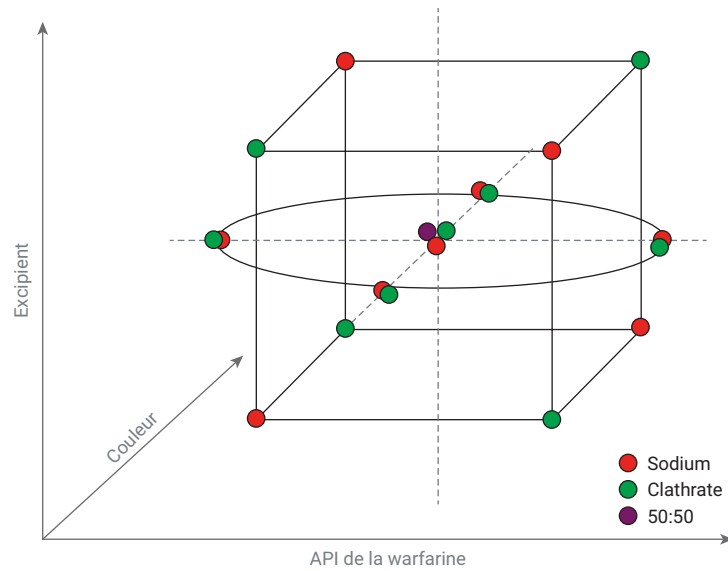


Figure 2. Structure cubique centrée DoE, 19 échantillons.

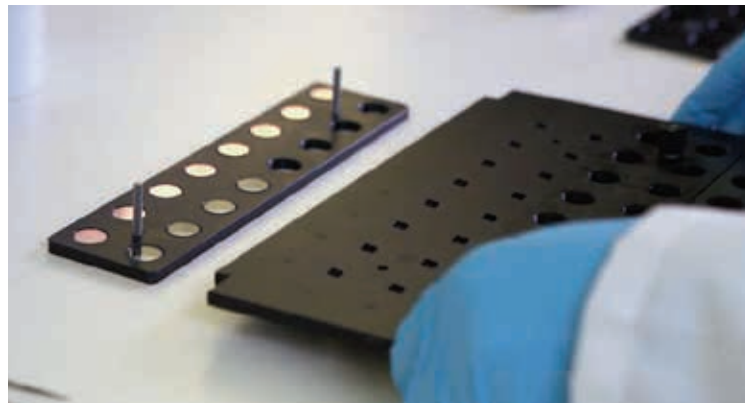
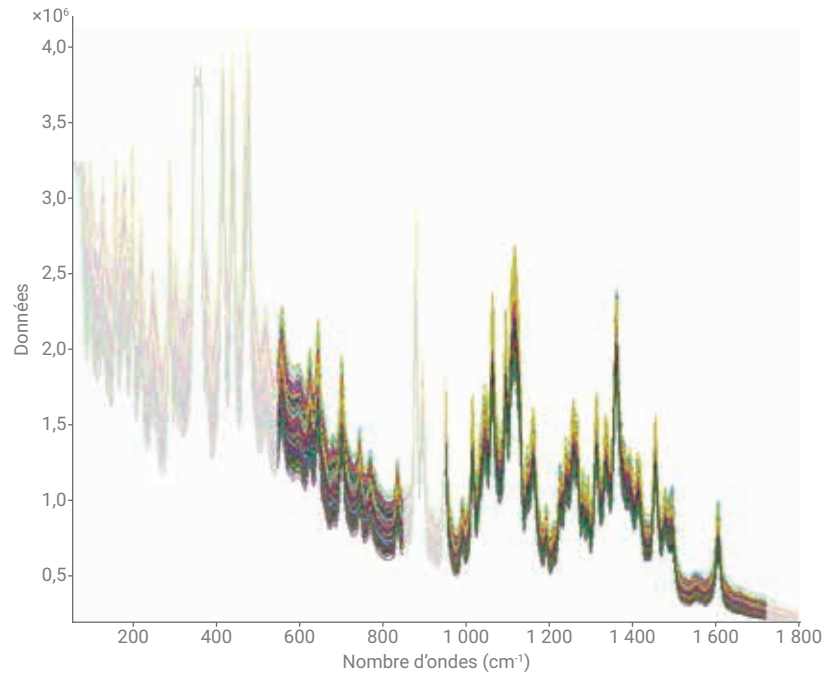


Figure 3. Ensemble de plateaux de l'amplificateur de faisceau.

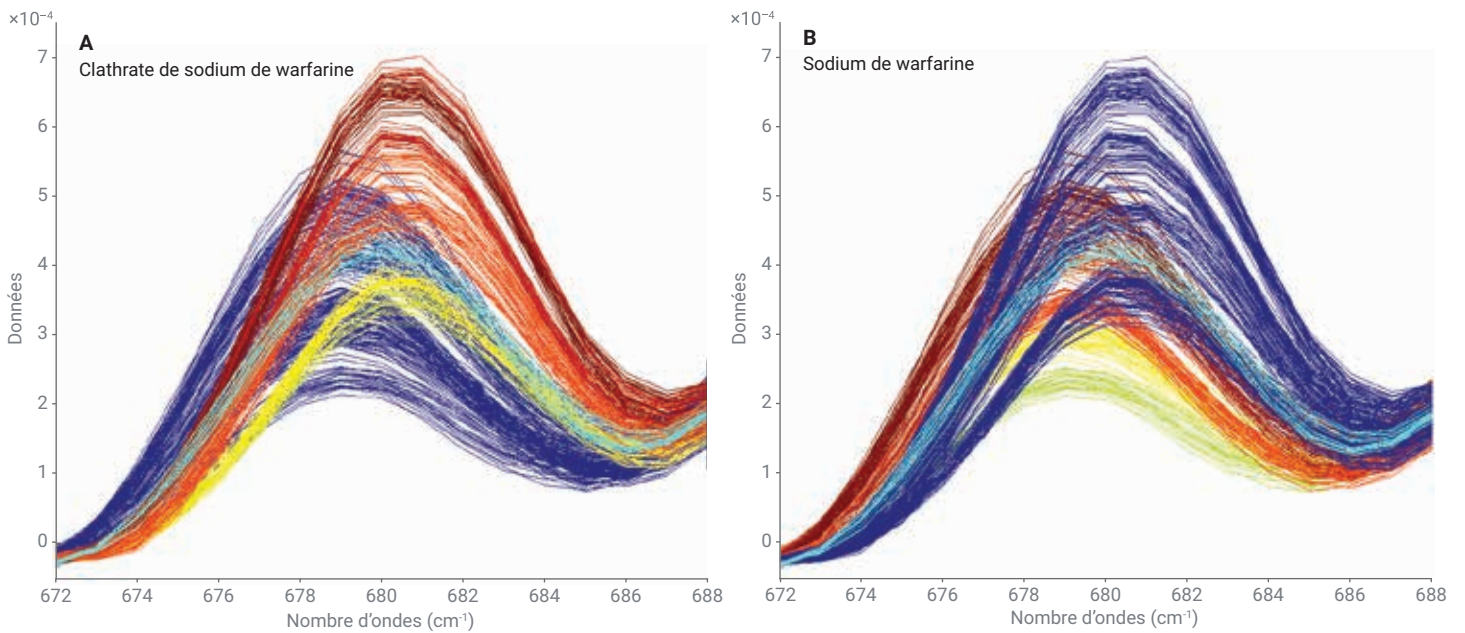
## Résultats et discussion

La Figure 4 illustre les spectres d'étalonnage obtenus.

Après avoir appliqué les corrections de base et de normalisation aux spectres d'étalonnage, nous avons observé de nettes différences spectrales dues aux changements de concentration en sel de warfarine. La Figure 5 montre un pic d'intérêt de la warfarine à environ  $680\text{ cm}^{-1}$ .



**Figure 4.** Trois cent-quatre-vingt-dix-neuf spectres TRS des échantillons d'étalonnage, avec affichage du domaine spectral utilisé dans la construction du modèle.



**Figure 5.** Région spectrale zoomée montrant la totalité des 399 spectres d'étalonnage en couleur en fonction de la concentration en sel de warfarine (bleu pour une faible concentration à rouge pour une concentration élevée). A) Le pic à  $681\text{ cm}^{-1}$  indique des changements spectraux de concentration du clathrate de sodium de warfarine. A) Le pic à  $679\text{ cm}^{-1}$  indique des changements spectraux de concentration du sodium de warfarine.

La Figure 6 montre des modèles des moindres carrés partiels (PLS) chimiométriques construits à l'aide des spectres d'étalonnage. Les paramètres du modèle optimal utilisés étaient les suivants : dérivée première, normalisation et prétraitement du centre moyen dans le domaine spectral allant de 500 à 850 et de 950 à 1 750  $\text{cm}^{-1}$ . La performance du modèle de  $R^2 = 0,99$  et RMSEC et CV tous deux égaux à 0,019 indiquent que le modèle a de bonnes caractéristiques. Les valeurs RMSEC et CV indiquent une erreur d'étalonnage de  $\pm 0,019\%$  m/m, qui, normalisée à la concentration nominale, donne une erreur du modèle de 4 %.

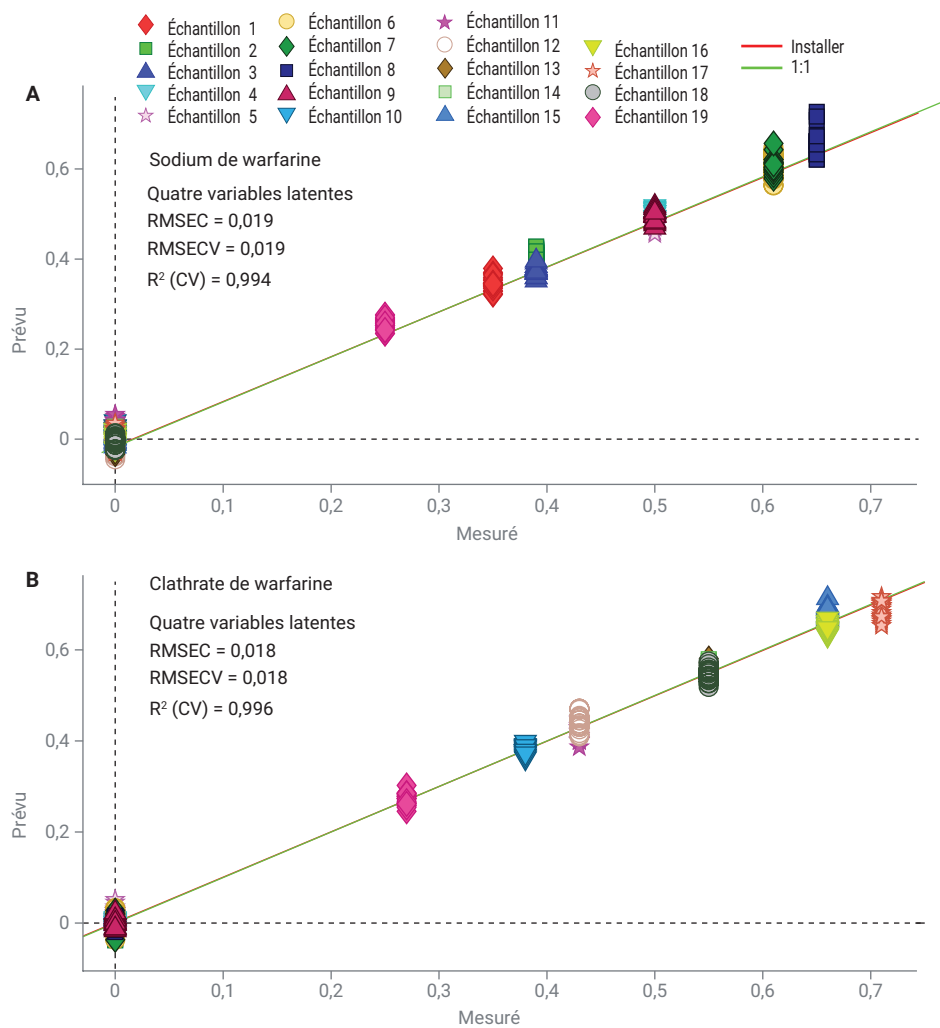


Figure 6. Modèles d'étalonnage PLS chimiométriques.

Les modèles ont été validés en utilisant des échantillons de production et de placebo, qui selon les prévisions devaient contenir du clathrate de sodium de warfarine et aucun sodium de warfarine (Figure 7). Un résultat RMSEP indique une erreur de prédiction de  $\pm 0,026$  % m/m, qui, normalisée à la concentration nominale, donne une erreur du modèle de 5 %.

## Conclusion

Cette note d'application démontre la capacité non seulement de faire la distinction entre les sels de sodium de warfarine dans des comprimés intacts entiers, mais également de les quantifier à la plus faible dose (1 mg, 0,5 % m/m) les uns en présence des autres.

Cette formulation était particulièrement difficile à analyser en raison de la présence d'un puissant colorant actif pour la Raman qui variait entre les lots de matériels de production et présentait un chevauchement avec l'API dans la région de 1 400 à 1 700  $\text{cm}^{-1}$ . La limitation de cette étude est la validation externe du modèle en utilisant des échantillons contenant un mélange des formes de sel. Cela nécessiterait un développement plus poussé.

Ce travail démontre la capacité d'utiliser la TRS pour quantifier la warfarine à 0,5 % m/m, ce qui est applicable aux tests en laboratoire de contrôle qualité pharmaceutique pour l'uniformité de teneur. Il est également possible de quantifier les deux formes pour vérifier l'efficacité de la forme du médicament dans le comprimé. D'autres applications peuvent inclure des tests de stabilité afin d'examiner la dégradation du WSC en WS.

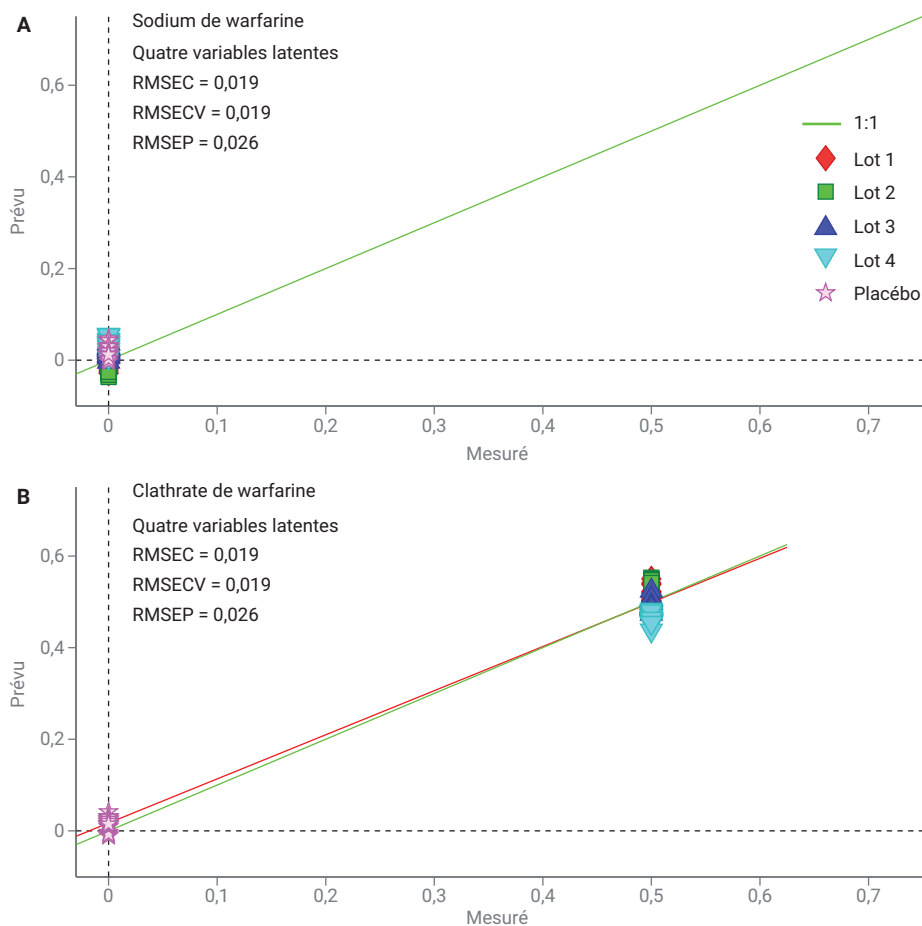


Figure 7. Échantillons de validation, prévision des lots de production et échantillons placebo.

## Références

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](http://www.agilent.com/chem/raman)

Ces informations peuvent être modifiées sans préavis.

© Agilent Technologies, Inc. 2019  
Imprimé aux États-Unis le 13 mai 2019  
5994-0904FR

 **Agilent**  
Trusted Answers