

Analisi quantitativa di compresse di Warfarin contenenti impurezze in forma salina mediante spettroscopia Raman in trasmissione



Autore

Julia Griffen
Agilent Technologies, Inc.

Abstract

In questa nota applicativa si illustra l'uso della spettroscopia Raman in trasmissione (TRS, transmission Raman spectroscopy) per la quantificazione di Warfarin in compresse farmaceutiche intatte intere allo 0,5 % peso/peso, con un tempo di misurazione di 20 secondi¹. La TRS è in grado di quantificare il Warfarin e di differenziare tra due sue forme senza preparazione del campione. Le tecniche di cromatografia tradizionali non sono in grado di conseguire questo risultato in quanto l'informazione sulla forma del farmaco è distrutta dalla solvatazione. La TRS consente di effettuare un'analisi del substrato quantitativa, non distruttiva, automatizzata e rapida per formulazioni farmaceutiche solide orali per la determinazione dell'uniformità del contenuto e l'analisi dei polimorfismi.

Introduzione

Il Warfarin puro è disponibile in forma di sale sodico amorfo (WS) e di clatrato cristallino (WSC). Durante la conservazione, la forma clatrato può dissociarsi dando origine al sale sodico amorfo e questa modificazione non è rilevabile mediante HPLC (entrambe le forme contribuiscono al risultato dell'analisi). La quantificazione di forme individuali di un principio attivo farmaceutico (API) in una formulazione farmaceutica può fare parte dell'attributo

critico per la qualità. Un metodo in grado di quantificare rapidamente entrambe le forme che sia non distruttivo, che non utilizzi solventi, che non produca scarti e che richieda un minore investimento in termini di personale e materiali risulta vantaggioso. In questa nota applicativa si indaga la fattibilità di misurare il Warfarin al dosaggio minimo (1 mg, 0,5% peso/peso) per determinare l'uniformità del contenuto e differenziare tra le due forme saline a questa bassa concentrazione.

Condizioni sperimentali

La Figura 1 mostra gli spettri Raman per le forme pure del Warfarin. Le due forme hanno spettri molto simili. Ci sono lievi differenze spettrali per quanto riguarda la posizione dei picchi e l'intensità a:

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



Figura 1. Spettri Raman in trasmissione di Warfarin sodico e Warfarin sodico clatrato, con il calcolo delle differenze spettrali.

Una stima accurata della concentrazione utilizza una calibrazione che segue un processo di design sperimentale (DoE) che tiene conto di tutte le variazioni della formulazione (componenti e fattori fisici). Le principali varianti utilizzate sono il colorante (forte contributo Raman), le forme del Warfarin (tra 0,35 e 0,71 % peso/peso) e il lattosio, come nella Figura 2. Sette compresse sono state prodotte per ognuno dei 19 campioni di calibrazione.

Le compresse sono state collocate in un vassoio di misurazione con potenziamento del fascio (vedere la Figura 3), e scansionate mediante un sistema di analisi farmaceutica quantitativa Raman Agilent TRS100. Le impostazioni di acquisizione per i campioni utilizzate sono potenza laser di 650 mW (830 nm) e 20 secondi totali di accumulazione per ogni compressa.

Il sistema di potenziamento del fascio ricicla la luce laser riflessa dalla superficie della compressa inviandola nuovamente verso la compressa. Di conseguenza, una maggiore quantità di luce laser penetra nel campione, determinando una maggiore intensità Raman di trasmissione rispetto a quanto avviene senza dispositivo di potenziamento².

Sono stati ottenuti risultati in triplicato, per un totale di 399 spettri (19 campioni × 7 compresse × 3 scansioni).

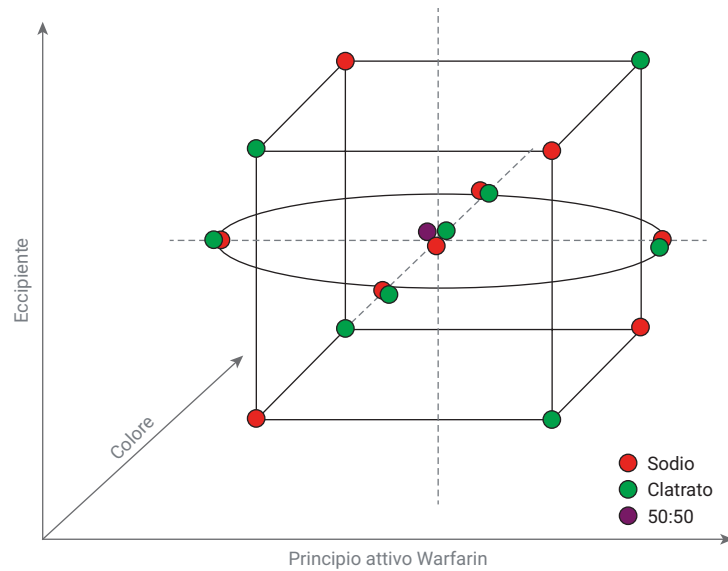


Figura 2. Design DoE cubico centrale, 19 campioni.

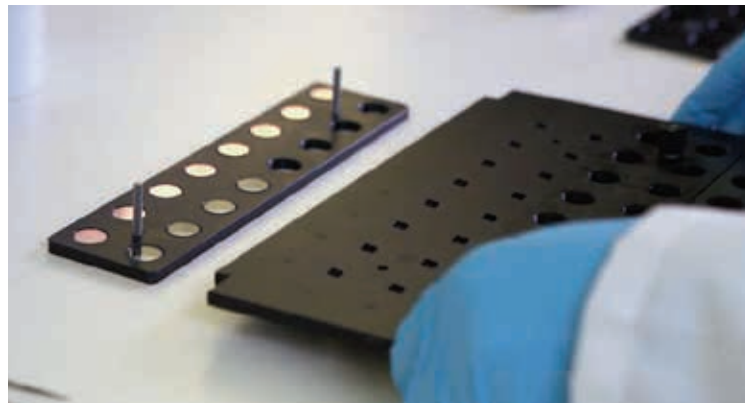


Figura 3. Assemblaggio del vassoio di potenziamento del fascio.

Risultati e discussione

La Figura 4 mostra gli spettri di calibrazione ottenuti.

Dopo l'applicazione agli spettri di calibrazione delle correzioni per la linea di base e per la normalizzazione, si osservano chiare differenze spettrali dovute alle modificazioni della concentrazione salina del Warfarin.

La Figura 5 mostra un picco di interesse del Warfarin a $\sim 680 \text{ cm}^{-1}$.

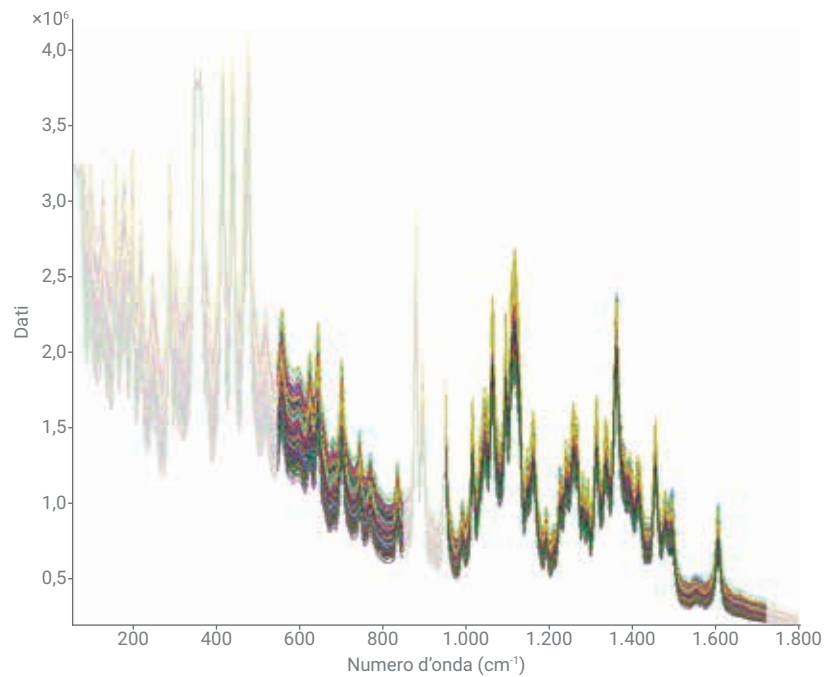


Figura 4. Sono mostrati trecentonovantanove spettri TRS dei campioni di calibrazione, con l'intervallo spettrale utilizzato nella costruzione del modello.

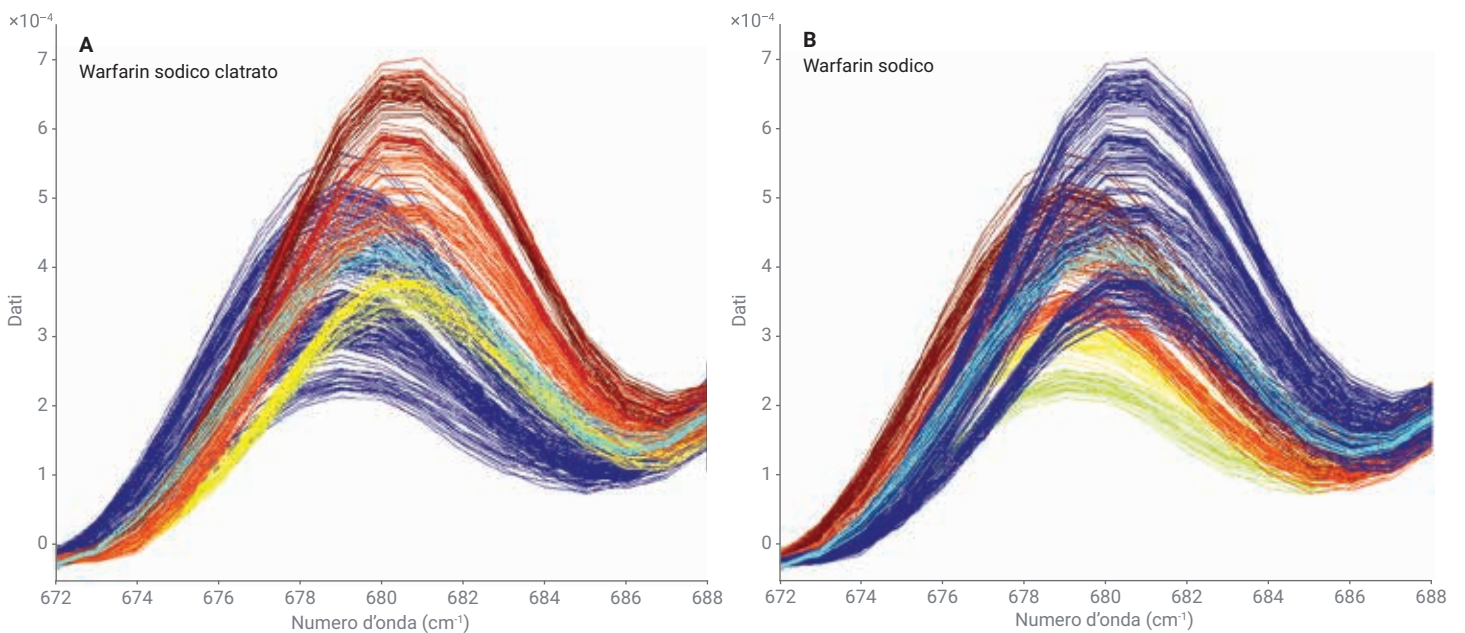


Figura 5. Un ingrandimento della regione spettrale che mostra 399 spettri di calibrazione colorati in base alla concentrazione di sali di Warfarin (il blu corrisponde a bassa concentrazione, il rosso ad alta concentrazione). A) Il picco a 681 cm^{-1} indica variazioni spettrali della concentrazione di Warfarin sodico clatrato. A) Il picco a 679 cm^{-1} indica variazioni spettrali della concentrazione di Warfarin sodico.

La Figura 6 mostra modelli chemiometrici dei minimi quadrati parziali (PLS, partial least squares) costruiti utilizzando gli spettri di calibrazione. I parametri ottimali del modello utilizzano una pre-elaborazione che consiste in derivata prima, normalizzazione e media centrale nell'intervallo spettrale tra 500 e 850 e in quello tra 950 e 1.750 cm^{-1} . I valori che descrivono le prestazioni del modello, $R^2 = 0,99$, RMSEC e CV pari entrambi a 0,019, sono indicativi delle buone caratteristiche del modello. I valori RMSEC e CV indicano un errore di calibrazione di $\pm 0,019\%$ peso/peso, che normalizzato rispetto alla concentrazione nominale dà un errore del modello del 4%.

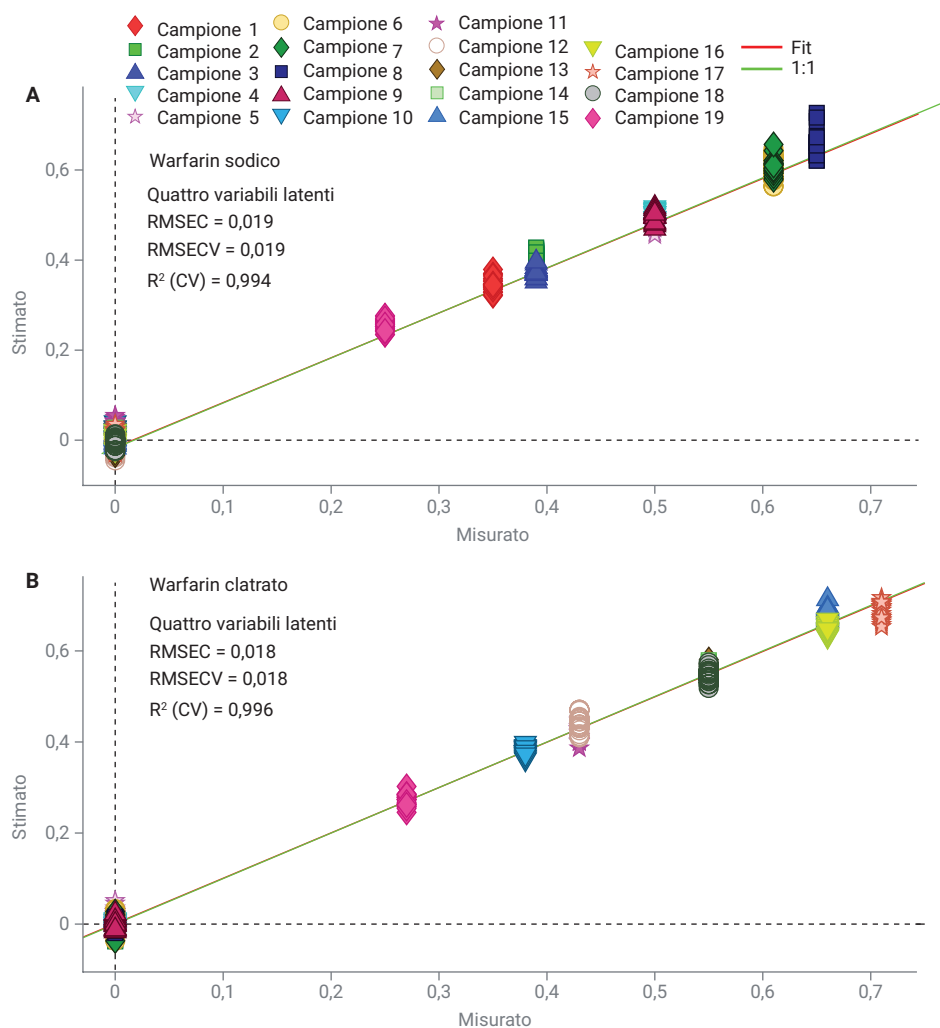


Figura 6. Modelli di calibrazione chemiometrici PLS.

I modelli sono stati validati utilizzando campioni di produzione e campioni di placebo, che si stimava contenessero Warfarin sodico clatrato ma non Warfarin sodico (Figura 7). Un valore RMSEP indica una stima dell'errore di $\pm 0,026\%$ peso/peso, che normalizzato rispetto alla concentrazione nominale dà un errore del modello del 5%.

Conclusione

In questa nota applicativa si dimostra la capacità non solo di distinguere tra sali di Warfarin sodico in compresse intatte intere, ma anche di quantificare tali sostanze a livello di dosaggio minimo (1 mg, 0,5 % peso/peso) quando sono entrambe presenti.

Questa formulazione è risultata particolarmente problematica a causa della presenza di un colorante fortemente Raman-attivo che variava a seconda del lotto del materiale di produzione e si sovrapponeva con gli API nella regione tra 1.400 e 1.700 cm^{-1} . Il limite del presente studio è la validazione esterna del modello utilizzando campioni che contengono una miscela di forme saline. Ciò richiederebbe un ulteriore sviluppo.

Questo studio dimostra la capacità di utilizzare la TRS per quantificare Warfarin alla concentrazione di 0,5 % peso/peso, impiegabile per eseguire test di laboratorio di controllo qualità in ambito farmaceutico per determinare l'uniformità del contenuto. Tale capacità può inoltre essere impiegata per quantificare le due forme per verificare l'efficacia della formulazione farmaceutica presente nella compressa. Altre applicazioni possono includere test di stabilità per esaminare la degradazione di WSC in WS.

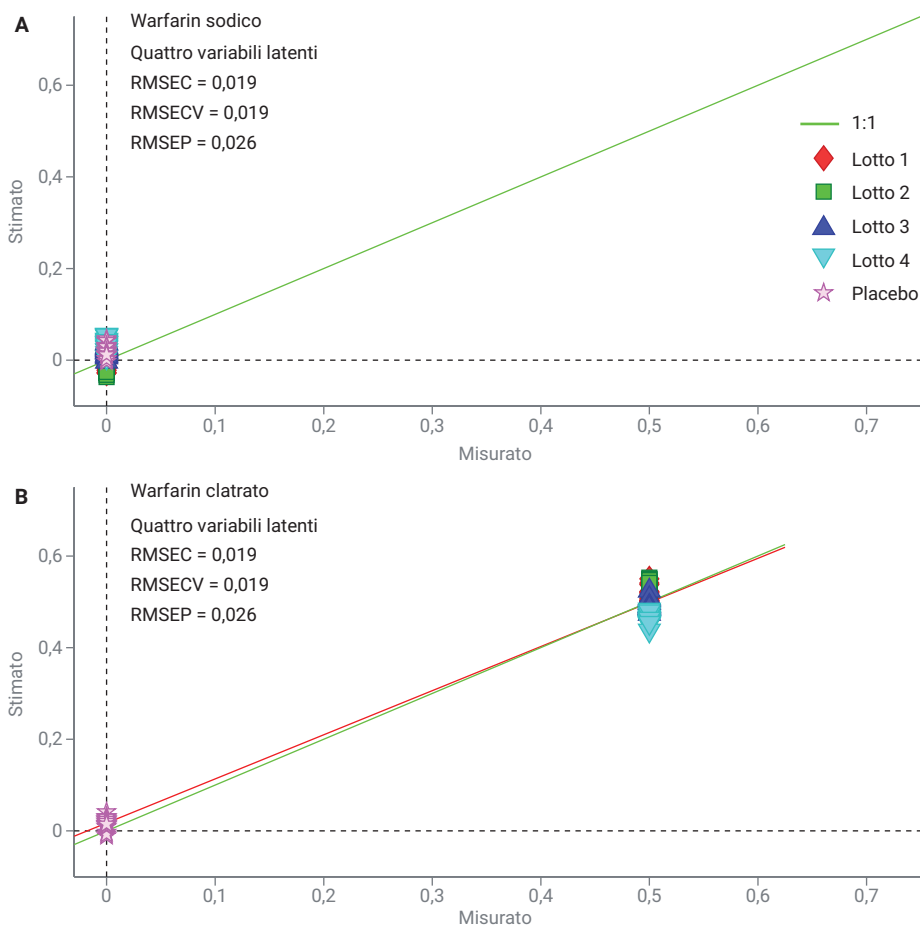


Figura 7. Campioni di validazione, con stime per lotti di produzione e campioni placebo.

Bibliografia

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

Le informazioni fornite possono variare senza preavviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2019
Stampato negli Stati Uniti, 13 maggio 2019
5994-0904ITE