

Sección 01- Química analítica

DETERMINACIÓN DE ASPIRINA Y CAFÉINA EN MEZCLAS SÓLIDAS MEDIANTE FTIR/PLS Y RAMAN/PLS

Natalia L. Calvo, Teodoro S. Kaufman y Rubén M. Maggio

Instituto de Química Rosario (IQUIR, CONICET-UNR) y Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Suipacha 531 (S2002LRK), Rosario, Argentina. E-mail: maggio@iquir-conicet.gov.ar

Introducción

Las nuevas regulaciones recomiendan el uso de métodos de vigilancia y monitoreo de procesos para permitir el control de calidad de los productos finales e intermediarios en tiempo real. El control de calidad en línea y la supervisión continua de procesos tienen varias ventajas para el fabricante, como disminución de los tiempos del ciclo de producción, prevención de rechazos de productos por reducción de errores humanos y mejora de la eficiencia por desarrollo de un proceso ininterrumpido. En particular, la manufactura a menudo requiere la caracterización química y física del producto sin interrumpir el proceso por remoción física de las muestras.

El ácido acetilsalicílico (aspirina, AAS) es ampliamente utilizado en productos analgésicos y antipiréticos [1]. Las formas de dosificación de AAS y sus combinaciones con otros fármacos se han enumerado en diversas farmacopeas [2, 3]. La literatura describe varios métodos para la determinación cuantitativa de AAS y sus asociaciones con otros principios activos mediante volumetría [3, 4], colorimetría [5], fluorimetría [6], espectrofotometría [6-10] y cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC) [2, 11-13]. Esta última constituye el método más popular para la separación de mezclas de principios activos y sus productos de degradación.

Las espectroscopías Raman y FTIR son técnicas que requieren poca o ninguna manipulación de muestra, proporcionan resultados rápidos y sus espectros son informativos para identificar analitos. La combinación de estas espectroscopías con el análisis multivariante se plantea como una alternativa válida para el análisis en línea de ingredientes farmacéuticos activos (IFAs) durante la producción.

Materiales y Métodos

Productos y reactivos:

Los IFAs y excipientes utilizados, de grado farmacéutico, fueron adquiridos a Droguería Saporiti (Bs. As., Argentina). Todos los productos se conservaron en un desecador, al abrigo de la luz, durante el desarrollo de los experimentos.

Preparación de mezclas de calibración y validación:

Se prepararon mezclas físicas de ambos IFAs junto con los excipientes presentes en formas farmacéuticas comerciales en diferentes proporciones, siguiendo sendos diseños experimentales para calibración (n= 12) y validación (n= 7).

Previa preparación de las mezclas, los componentes fueron mantenidos en desecador y tamizados mecánicamente, seleccionando las fracciones entre 50 y 100 mesh. Las muestras fueron homogeneizadas a 30 rpm durante 15 min utilizando un

mezclador en Z.

Adquisición de espectros:

Los espectros en el infrarrojo medio ($4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$) fueron adquiridos utilizando un accesorio de reflectancia atenuada (ATR). Los espectros Raman fueron obtenidos a partir de muestras contenidas en viales de vidrio de 12 mm de diámetro, en el intervalo de $2911,5 - 100,0\text{ cm}^{-1}$. En ambos casos se analizó un total de 19 muestras, por triplicado.

Resultados y discusión

Con el objeto de determinar las abundancias de los IFAs en las mezclas de sólidos, se desarrollaron dos modelos quimiométricos aplicando el algoritmo PLS a señales Raman y FTIR.

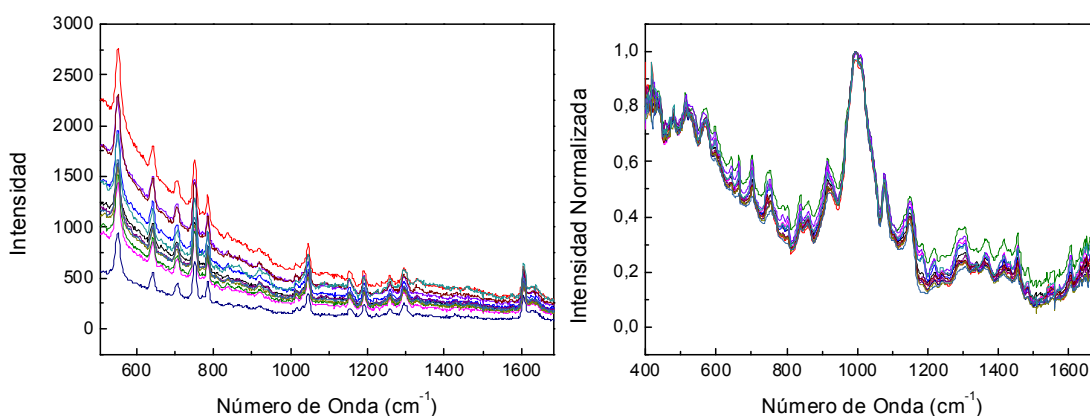


Figura 1. Espectros Raman (izquierda) y FTIR (derecha) de las mezclas pertenecientes al conjunto de calibración.

Para cada espectroscopía, se desarrollaron las condiciones óptimas analizando el conjunto de calibración. El número de variables latentes se determinó en base a la variancia explicada por el gráfico de componentes principales [14]. En espectroscopía Raman la región espectral seleccionada para ambos IFAs fue $1686,1 - 506,3\text{ cm}^{-1}$ (650 sensores), seleccionada utilizando el algoritmo de ventana móvil [15]. Pevio al análisis de cada IFA, los espectros fueron normalizados aplicando la transformación en variable normal estándar (SNV), sustracción de tendencia (detrending) y suavizado (smoothing) utilizando un algoritmo de orden 2 con un ancho de ventana de 11 sensores.

Para los espectros FTIR, la región espectral seleccionada para ambos IFAs fue $1940\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ (800 sensores), empleando un pre-tratamiento diferente para cada IFA. En el caso de AAS se utilizó centrado en la media y primera derivada (con un algoritmo de orden 2 y una ventana de 15 sensores). Para CAF se realizó la sustracción de tendencia, SNV, corrección multiplicativa de la dispersión (MSC) y transformación a la primera derivada, con un algoritmo de orden 2 y una ventana de 15 sensores.

Se realizó una validación interna cruzada (cross-validation), analizando el conjunto de calibración. Se examinaron las estadísticas, cifras de merito y la recta de regresión concentración real Vs. predicha (Figura 2).

Seguidamente, se evaluó el desempeño de cada método desarrollado (FTIR-AAS, FTIR-CAF, Raman-AAS y Raman-CAF) analizando el conjunto de validación donde se

examinó el nivel de recuperación de cada IFA, la dispersión de los resultados (Tabla 1), la recta de regresión entre concentración real Vs. predicha y la elipse de confianza conjunta.

Tabla 1. Evaluación del grupo de validación mediante las diferentes metodologías.

Validación								
	Raman				FTIR			
	AAS		CAF		AAS		CAF	
	Conc. (P/P, %)	Rec. (%)	Conc. (P/P, %)	Rec. (%)	Conc. (P/P, %)	Rec. (%)	Conc. (P/P, %)	Rec. (%)
Nivel 1	33	98,4	2,5	113,73	33	109,2	2,5	100,3
Nivel 2	41	103,1	3,9	106,46	41	98,7	3,9	94,7
Nivel 3	50	95,2	5	94,39	50	103,6	5	84,5
Recuperación Promedio (%)	100,6		105,7		101,3		93,8	
Desvío Estándar Relativo (%)	4,2		7,5		6,1		6,8	
Error Relativo Predicción (%)	4,0		8,4		5,4		1,0	
Curva de concentración real Vs. predicha								
r^2	0,9008		0,8903		0,8135		0,9345	
y_0	4,9 ± 7,0		1,0 ± 0,5		3,5 ± 9,2		1,0 ± 0,4	
Pendiente	0,89 ± 0,17		0,78 ± 0,14		0,93 ± 0,22		0,68 ± 0,10	
n	5		6		6		5	
ANOVA								
SS Entre grupos	53,9		194,7		95,5		131,1	
SS Dentro de grupos	17,9		87,5		93,1		54,3	
$F_{\text{Observado}}$	3,0		3,3		1,5		2,4	
$F_{\text{Crítico}}$	19		9,5		9,5		19	

La exactitud fue evaluada a 3 niveles de concentración calculando la recuperación de las muestras en el conjunto validación (Tabla 1), que en todos los casos no se apartó significativamente del 100%. La precisión del método fue evaluada determinando la dispersión de los datos en los distintos niveles; tanto para AAS como para CAF las desviaciones estándar relativas fueron menores de 10% (Tabla 1).

Las elipses de confianza conjunta para la ordenada al origen y la pendiente fueron evaluadas para los 4 modelos de los datos. En todos los casos, éstas contuvieron al punto ($H_0 = 0$; $M = 1$).

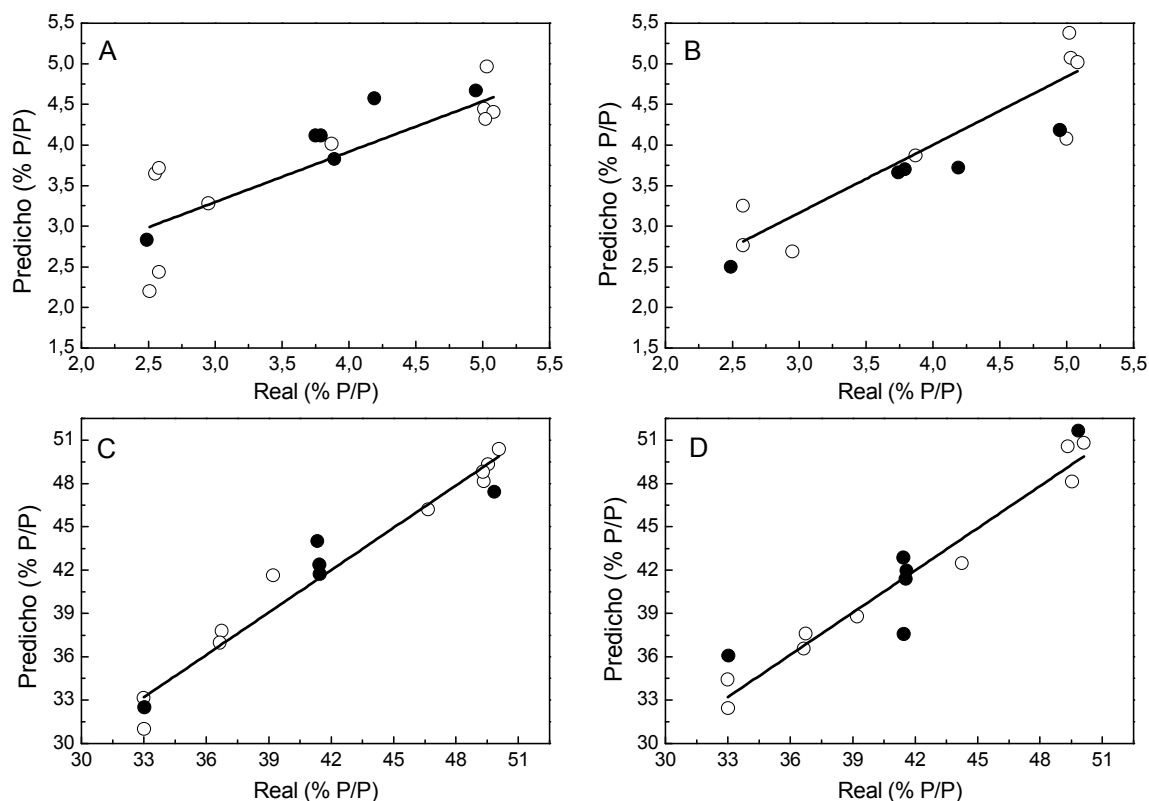


Figura 2. Concentraciones reales Vs. predichas por Raman-PLS (A, CAF y C, AAS) y FTIR-PLS (B, CAF y D, AAS) para el conjunto de calibración (○) y validación (●).

Se puede concluir que los modelos desarrollados demostraron ser de aplicación posible al control de calidad rutinario de ambos IFAs en mezclas físicas. Futuros estudios estarán enfocados a mejorar el desempeño del método y evaluar su aplicación en productos formulados comerciales.

Referencias

- [1] S. C. Sweetman, Martindale – The Complete Drug Reference, 35th edition, Pharmaceutical Press, London, 2006.
- [2] The United States Pharmacopoeia, 32rd revision, U.S. Pharmacopoeial Convention, Rockville, MD, 2009, p. 1585 y 1741.
- [3] British Pharmacopoeia CD, The Stationery Office Ltd., Norwich, 2010, p- 2381.
- [4] European Pharmacopoeia, seventh edition, Convention on the Elaboration of a European Pharmacopoeia, Strasbourg, 2010, p. 1317 y 1536.
- [5] Clarke's Analysis of Drugs and Poisons, 3rd edition, The Pharmaceutical Press, London, 2005.
- [6] N. Ramos Martos, A. Molina Díaz, A. Navalón, I. De Orbe Payá, L.F. Capitán Vallvey, J. Pharm. Biomed. Anal. 23 (2000) 837-844.

- [7] A. Ruiz Medina, M.L. Fernández de Córdova, A. Molina-Diaz, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 21 (1999) 983-992.
- [8] M.M. Sena, R.J. Poppi, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 34 (2004) 27-34.
- [9] E. Dinc, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 21 (1999) 723–730.
- [10] M.M. Sena, J.C.B. Fernandes, L. Rover Jr., R.J. Poppi, L.T. Kubota, *Anal. Chim.* 409 (2000) 159–170.
- [11] S.M. Wabaidur, Z.A. Alothman, M.R. Khan, *Spectrochim. Acta A* 108 (2013) 20-25.
- [12] S.K. Malisetty, C. Rambabu, *Pharm. Meth.* 4 (2013) 26-29.
- [13] M. Gandhimathi, T.K. Ravi, A. Abraham, R. Thomas, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 32 (2003) 1145-1148.
- [14] R.B. D'agostino, H.K. Russell, *Scree Test*. en: *Encyclopedia of Biostatistics*, Wiley, New York, USA, 2005.
- [15] R.M. Maggio, P.M. Castellano, S.E. Vignaduzzo, T.S. Kaufman, *J. Pharm Biomed. Anal.*, 45 (2007) 804–810.