

Marina Antonio ^a, Mariano Raffaghelli ^b, Rubén M. Maggio ^a
mantonio@fbioyf.unr.edu.ar

^a Área Análisis de Medicamentos. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Instituto de Química Rosario (IQUIR, CONICET-UNR), Suipacha 531, S2002LRK, Rosario, Argentina. French 4950, S3006ETP
^b Laboratorio Industrial Farmacéutico S.E., Santa Fe, Argentina.

Introducción

La aplicación de técnicas para la identificación, caracterización y cuantificación de los polimorfos en todas las etapas del proceso de manufactura resulta esencial en la industria farmacéutica, debido a que cambios en la forma polimórfica conducen a potenciales modificaciones en la eficacia y seguridad del producto formulado.

Pirazinamida (PZA) es un antibiótico utilizado en el tratamiento de primera línea de la tuberculosis. PZA presenta cuatro formas cristalinas (α , β , δ , γ), siendo α la forma idónea para formulaciones sólidas.

PZA junto con Rifampicina (RIF), Isoniazida (ISH) y Etambutol (ETB) conforman el núcleo central del tratamiento anti tuberculoso. Estos medicamentos pueden encontrarse individualmente o como asociaciones de combinación de dosis fija (FDC).

En el presente trabajo se desarrolló una metodología analítica basada en espectroscopia en el infrarrojo cercano (NIR) y regresión por cuadrados mínimos parciales (PLS) para determinar la pureza polimórfica de la Forma α en comprimidos FDC intactos, laminados y reducidos a polvo.

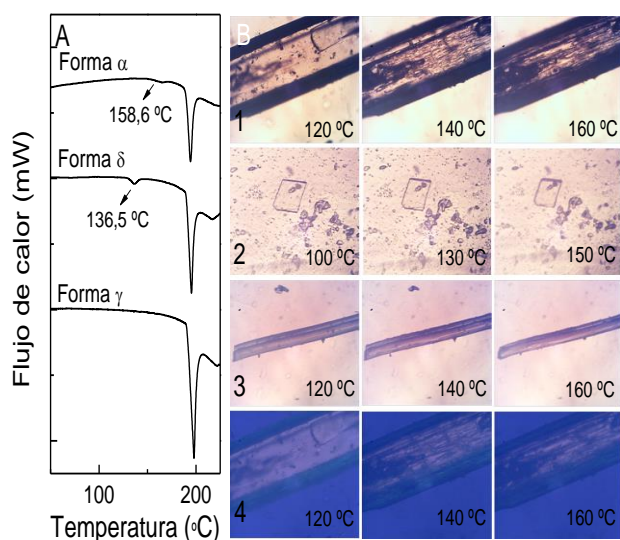
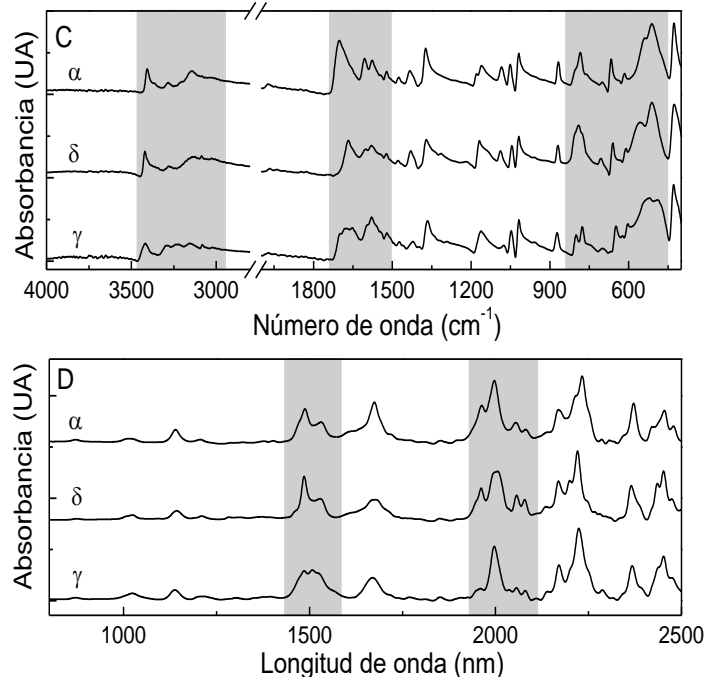


Figura 1. Termogramas DSC (A) e imágenes de los cristales obtenidas por Termomicroscopía (B) para las Formas α (1), δ (2) y γ (3). Cristales de Forma α observados con luz polarizada (4). Espectros MIR (C) y NIR (D) de los polimorfos de PZA.



Materiales y Métodos

Se obtuvieron y caracterizaron (**Fig. 1**) lotes de las Formas α , δ y γ de PZA. La Forma β fue descartada debido a su naturaleza transitoria.

Se prepararon conjuntos de calibración ($n=30$) y validación ($n=18$) conteniendo mezclas polimórficas en proporciones pre-establecidas mediante pesada, tamizado y mezclado mecánico.

El peso de cada muestra fue completado con RIF, ISH y matriz de excipientes, siguiendo la formula declarada.

Los comprimidos de lote piloto fueron analizados de tres maneras, intactos, reducidos a polvo y seccionados longitudinalmente.

Los espectros NIR fueron obtenidos por triplicado en el intervalo 800-2500 nm y analizados mediante PLS utilizando MVC1 para Matlab 17b.

DESARROLLO DE UNA ESTRATEGIA ANALÍTICA BASADA EN ESPECTROSCOPIA NIR-QUIMIOMETRÍA PARA LA DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO POLIMÓRFICO DE PIRAZINAMIDA EN FORMULACIONES DE TRIPLE ASOCIACIÓN

Resultados y Discusión

Los parámetros PLS óptimos se obtuvieron analizando la cifras de mérito de la calibración mediante un enfoque de diagrama de estrellas (**Fig. 2**), obteniendo: 3 LV, intervalo espectral 800-2500 nm y variante normal estándar y derivada (SNV-D') como pre-tratamiento conjunto (**Tabla 1**).

Exactitud y precisión fueron evaluadas mediante comparación de los valores reales contra los predichos por PLS para el conjunto de validación para la Forma α , observándose una recuperación satisfactoria al analizar las muestras de validación ($98,7 \pm 1,5\%$, **Fig. 3A, Tabla 1**).

El modelo NIR-PLS validado se utilizó para determinar el contenido de Forma α en FDC.

Se seleccionaron al azar 30 comprimidos y se sometieron a tres tratamientos diferentes: sección longitudinal (10), reducción a polvo (10) y sin tratamiento (10).

Los valores de Forma α en comprimidos intactos ($0,984 \pm 0,003$ p/p), seccionados ($0,986 \pm 0,002$ p/p) y reducidos a polvo ($0,985 \pm 0,004$ p/p) estuvieron de acuerdo con el IFA utilizado (**Fig. 3B**).

Una fracción de las comprimidos reducidos a polvo fue fortificada mediante el agregado de Formas δ y γ para obtener niveles de Forma α de 78; 88 y 98 % p/p. Los resultados para estas muestras mostraron niveles de recuperación entre 97-102% (**Fig. 3B**).

Tabla 1. Parámetros de calibración, cifras de mérito y estadísticas de la validación obtenidos para el modelo NIR-PLS.

Estadísticas de la calibración

Niveles Forma α (p/p)	0,70 - 0,75 - 0,80 - 0,85 - 0,90 - 1,00
Intervalo espectral (nm)	800-2500
Factores PLS (LV)	3
Pre-tratamiento	SNV-D'
REP ^a (%)	2,0
RMSEP ^b	0,0163
Sens. anal. (γ ; p/p^{-1})	232
DMDC ^c (γ^{-1} ; p/p)	$4,3 \cdot 10^{-4}$
LOD ^d (p/p)	0,08

Estadísticas de la validación

Niveles Forma α (p/p)	0,73 - 0,78 - 0,83 - 0,88 - 0,93 - 0,98
Recuperación media (%)	98,7
RSD ^e (%)	1,5

REP^a: Relative Mean Error. RMSEP^b: Root Mean Square. DMDC^c: Detectable Minimum Difference Concentration. LOD^d: Limit of Detection. RSD^e: Relative Standar Deviation.

Conclusiones

La metodología desarrollada demostró ser simple, exacta y precisa, obteniéndose resultados comparables a partir de comprimidos enteros, seccionados y reducidos a polvo.

Las propiedades mencionadas convierten esta estrategia en una excelente alternativa para la implementación como tecnología analítica de procesos (PAT).

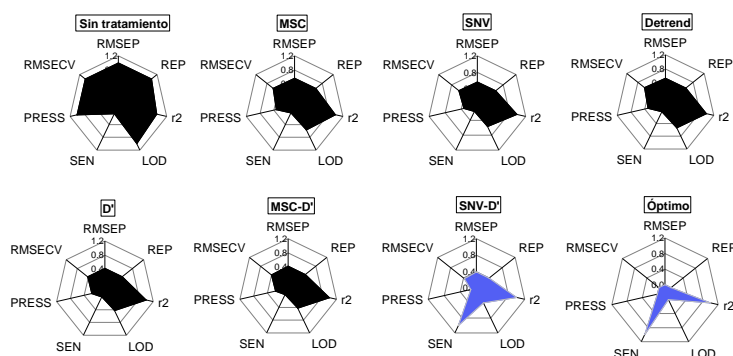


Figura 2. Diagramas radiales obtenidos a partir de los pre-tratamientos evaluados durante la optimización del modelo NIR-PLS para determinación de Forma α en formulaciones FDC de triple asociación (PZA/RIF/ISH).

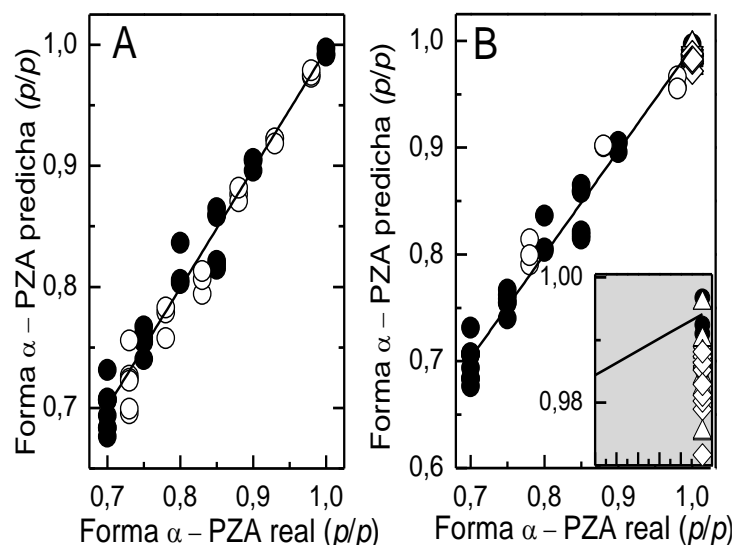


Figura 3. Contenido real vs predicho de Forma α (p/p) en los conjuntos de calibración (●) y validación (○), utilizando el modelo NIR-PLS optimizado (A). Muestras comerciales de formulaciones FDC fortificadas (○) con Formas δ y γ puras (T1 \diamond , T2 Δ y T3 ∇) en los datos de calibración (●) (B).