

Controllo del titolo di principio attivo in compresse filmate di Ticlopidina tramite spettroscopia NIR

Simona Prampolini* Angelina Carelli* Ferrari Giuseppe**
* *Doppel Farmaceutici S.r.l. Rozzano (MI)*
** *BÜCHI Italia S.r.l., Assago (MI)*

Introduzione

Il titolo del principio attivo nei prodotti farmaceutici deve essere controllato prima dell'immissione sul mercato.

Esso è, infatti, una delle specifiche di rilascio descritte nel Dossier Tecnico e/o nelle farmacopee ufficiali di riferimento.

L'uniformità di contenuto, del principio attivo nelle compresse, deve essere anch'essa garantita quando il contenuto in principio attivo è meno del 2% della massa totale.

Garantire queste caratteristiche è necessario per supportare la Qualità e l'Efficacia del lotto di farmaco.

Nel caso di Ticlopidina compresse filmate la tecnica ufficiale è una tecnica cromatografica (HPLC) che richiede però una lunga preparazione del campione e l'utilizzo di solventi per diluizione, consentendo solo il controllo distruttivo dei campioni analizzati.

E' stata indagata la possibilità di applicare la spettroscopia FT-NIR per la determinazione quantitativa del principio attivo nelle compresse filmate di Ticlopidina.

Materiali e Metodi

Gli spettri, utilizzati per creare la retta di calibrazione del titolo in principio attivo di compresse filmate di ticlopidina, sono stati acquisiti nel laboratorio Controllo Qualità della Doppel Farmaceutici, utilizzando uno Spettrometro FT - NIR NIRFlex N - 400 della Buchi Labortechnik AG (Svizzera) con sonda a fibre ottiche di lunghezza 2 m per analisi in riflettanza diffusa, dotata d'apposito supporto per il posizionamento delle compresse.

Parametri strumentali:

Range 4000 - 10000 cm^{-1}
Risoluzione 12 cm^{-1}
Scansioni 10

Per ogni lotto sono state analizzate sei compresse e per ognuna sono state effettuate tre

repliche, per un totale di diciotto letture per lotto; infine si è ottenuto uno spettro medio per ogni lotto al quale è stato assegnato come valore vero il dato ottenuto impiegando il metodo di analisi registrato.

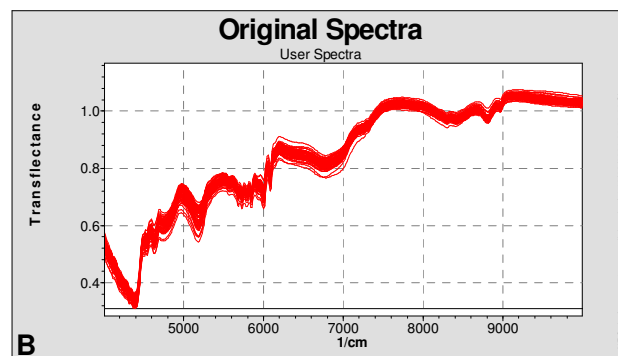


Fig. 1: Spettri compresse filmate di ticlopidina
Range 95,0-105,0%
Peso medio 345 mg
Titolo 237.5 – 262.5 mg/CPR

La retta di calibrazione è stata creata analizzando 63 lotti di compresse filmate di Ticlopidina., di cui ne sono stati utilizzati 35 per calibrare lo strumento e 17 per validare l'applicazione.

Per valutare la linearità della risposta, sono stati creati in laboratorio 11 campioni aggiuntivi di placebo in polvere a concentrazioni note di principio attivo. Gli spettri sono stati acquisiti con lo stesso accessorio delle compresse, comprimendo la polvere nell'alloggiamento



Fig. 1 NIRflex N-400

Di seguito si riportano le concentrazioni di principio attivo nelle polveri ricostituite.

PERCENTUALE TITOLO	TEORICO mg TICLOPIDINA/ CPR
50,0%	124.87
79,8%	199.45
94,8%	236.88
97.5%	243.67
100,0%	249.94
102.5%	256.26
105,0%	262.58
120,8%	301,92
134,6%	336.44

Tab. 1 Titoli teorici delle miscele

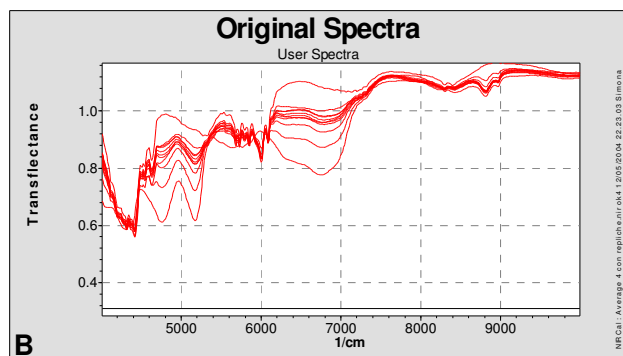


Fig. 3 Spettri delle miscele

Risultati e discussioni

Elaborando gli spettri ottenuti, si ottiene una retta di calibrazione per la predizione della concentrazione di Ticlopidina i cui risultati sono di seguito riportati.

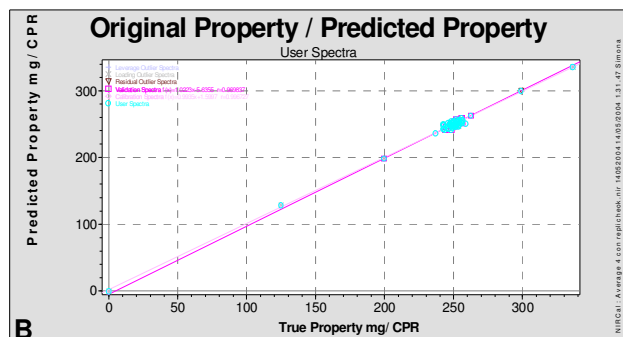


Fig. 4 Retta di calibrazione compresse + polveri

Parametri di calibrazione:

Algoritmo matematico	PCR
Pretrattamento dei dati	MSC full
Coefficiente di regressione C	0.996
Coefficiente di regressione V	0.970
SEE	3.489
SEP	3.435
Consistency	101.56

Successivamente sono state valutate le prestazioni delle due metodiche rispetto al valore delle pesate dei campioni di miscela. (Tab.2 A-B)

HPLC mg/ CPR	NIR mg/ CPR
122.93	128,36
198.01	198,59
235.64	235,96
242.03	241,37
251.06	248,12
249.73	256,52
260.43	263,15
296.49	299,59
333.95	336,09
Precisione	
RECOVERY HPLC %	RECOVERY NIR %
98.45	102,80
99.28	99,57
99.48	99,61
99.33	99,06
100.45	99,27
97.45	100,10
99.18	100,22
99.21	100,24
99.27	99,91
MEDIA	MEDIA
99.12	100,09
DEV.ST.	DEV.ST.
0.81	1.10
DEV.ST.%	DEV.ST.%
0.82	1.10
Linearità	
Coeff.di corr. (r^2)	0.99
Slope	3.42
Y intercept	2.24

Tab. 2 A Parametri rispetto al valore teorico

Precisione		
	Variable 1	Variable 2
Mean	100,09	99.12
Variance	1.20	0.65
F-Test Two-Sample for Variances		
Observations	9	9
df	8	8
F		1,84
P(F<=f) one-tail		0.20
F Critical one-tail		3.44
t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances		
Observations	9	9
Pooled Variance		0,93
Hypothesized Mean Difference		0
df		16
t Stat		2,13
P(T<=t) one-tail		0,02
t Critical one-tail		1,75
P(T<=t) two-tail		0,05
t Critical two-tail		2.12
Linearità		
t		0.68
t Critical		2.36

Tab. 2B Valutazione statistica dei dati ottenuti con le due metodiche in esame (F, t).

I dati ottenuti evidenziano una buona linearità del metodo NIR, non significativamente diversa dalla linearità del metodo di riferimento, mentre si riscontra una precisione inferiore.

Ciò è dovuto al modo in cui è stata creata la retta di calibrazione dove, come valore vero per i 63 lotti di compresse, sono stati usati i dati delle analisi di rilascio del lotto del Controllo Qualità e non i dati reali delle singole compresse analizzate con il NIRS.

Per ampliare la retta di calibrazione, sono state inoltre usate polveri di placebo e di principio attivo miscelate e non compresse, che introducono un'ulteriore variabilità alla matrice per l'analisi NIR a causa della diversa riflessione della luce. Lo stesso problema non si presenta nell'analisi per HPLC, poiché richiede la macinazione delle compresse e la preparazione dei campioni in soluzione.

Per verificare l'influenza delle due matrici sulla precisione, si è sviluppata una nuova calibrazione analizzando solo i dati relativi alle compresse.

I risultati ottenuti sono di seguito riportati.

Parametri di calibrazione:

Algoritmo matematico	PCR
Pretrattamento dei dati	Derivata prima + Normalizzazione by Cluster
Coefficiente di regressione C	0.835
Coefficiente di regressione V	0.773
SEE	2.481
SEP	2.186
Consistency	113.476

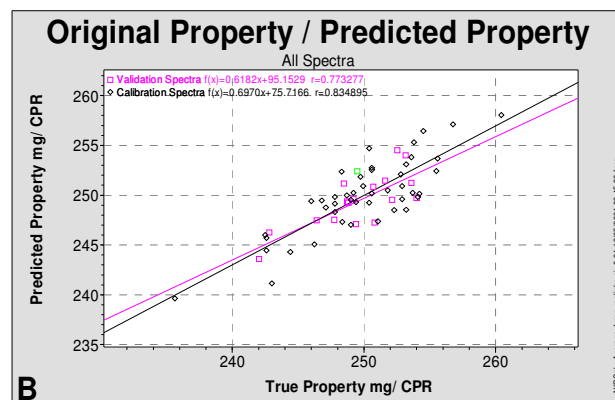


Fig. 5 Retta di calibrazione con solo compresse

Osservando i dati si nota un significativo miglioramento della precisione ottenuta.

Ci si può aspettare quindi che utilizzando come valori di riferimento per la calibrazione, le analisi sulle compresse scansionate e non il valore medio del lotto, i risultati migliorino ulteriormente.

Un nuovo miglioramento dei dati si potrebbe avere usando, per creare la calibrazione del NIR, compresse create in laboratorio di cui si conosce il contenuto di principio attivo teorico escludendo così l'influenza della precisione del metodo di riferimento.

Lo studio è da considerarsi un primo approccio per verificare la possibilità di utilizzare la tecnica NIR per il monitoraggio della produzione, data la semplicità, la non

distruttività e la rapidità d'analisi, che permetterebbero di incrementare e velocizzare il numero di controlli.

Aumentando il numero di campioni e seguendo le indicazioni sopra descritte si potrebbero avere risultati sicuramente migliori che potrebbero portare ad un effettivo impiego della tecnica NIR nel controllo del principio attivo durante il processo produttivo nell'industria farmaceutica.