

Identificación de Materias Primas usando Espectroscopía Raman: Principios activos (APIs)

LUIS ALFONSO
LÓPEZ-VILLALTA



DIRECTOR GENERAL DE
ANTON PAAR SPAIN

El espectrómetro Raman junto con el cumplimiento de Data Integrity es una herramienta rápida y eficaz para la identificación de principios activos (APIs) dentro de un entorno altamente regulado manteniendo la integridad de los datos. Permite además el desarrollo de métodos conforme a USP o EP de una forma sencilla.

La industria farmacéutica es uno de los entornos más estrictamente regulados del mundo. Desde la recepción de las materias primas hasta el empaquetado del producto final, todos los procesos productivos deben monitorizarse de acuerdo con los requerimientos legales para asegurar la calidad del producto y minimizar los riesgos para los pacientes en todos los rincones del planeta. Las diferentes farmacopeas internacionales y las guías GMP exigen la identificación química, entre otros ensayos, de los principios activos (APIs).^{[1],[2],[3]} Se requieren métodos rápidos y precisos para garantizar de forma inmediata si un determinado lote cumple especificaciones y puede ser liberado. El espectrómetro Raman ofrece una identificación rápida y fiable utilizando la comparación algorítmica con librerías de espectros. Permitiendo el desarrollo y la validación de los métodos analíticos mediante procesos sencillos a través de una interfaz de usuario intuitiva. El software debe cumplir con la regulación 21CFRPart11 de la FDA, además de garantizar la seguridad, la integridad y la trazabilidad de los datos.^[4]

Principios Activos (APIs)

De acuerdo con GMP un ingrediente farmacéutico activo (API) o principio activo es "cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a ser utilizadas en la fabricación de un medicamento y que, una vez utilizada en la su producción, se convierte



Figura 1: Montaje experimental.

en un ingrediente activo del mismo".^[4] Además, GMP indica que estas sustancias están destinadas a proporcionar actividad farmacológica u otro efecto directo en el diagnóstico, tratamiento, o prevención de una enfermedad, o para afectar directamente a la estructura y la función del cuerpo".^[4]

De acuerdo con las farmacopeas internacionales, se requiere el ensayo de identificación de todos y cada uno de los API usados en la

fabricación de medicamentos, tal y como se recoge en sus respectivos capítulos.^{[5], [6]}

Requisitos para la identificación mediante espectroscopía Raman de acuerdo a la USP

De acuerdo al capítulo 197 de la USP, la espectroscopía Raman se puede utilizar para la identificación de materias primas como excipientes, precursores, o API^[6]. Con las siguientes recomendaciones: la instrumentación debe es-

API	Medicamento	Abreviatura
Acetaminophen	Analgesic, antipyretic	AAP
Amoxicillin	antibiotic	AMX
Aspirin	Analgesic, anti-inflammatory drug, antipyretic	ASP
Azithromycin	antibiotic	AZM
Caffeine	CNS stimulant	CAF
Ciprofloxacin	antibiotic	CFX
Clarithromycin	antibiotic	CLM
Dopamine HCl	Anti-hypotensive, treatment of bradycardia	DOP
Hyaluronic acid sodium salt	glycosaminoglycan	HYA
Hydrocortisone	Corticosteroid, Immunosuppressive drug	HYD
Ibuprofen	Non-steroidal anti-inflammatory drug, anti-pyretic, analgesic	IBU

Tabla 1: Listado de API medidos."



EMPACK

THE FUTURE OF PACKAGING

26 & 27 octubre 2022 | IFEMA, Madrid



ENCUENTRA NUEVAS SOLUCIONES DE PACKAGING, ENVASADO Y ETIQUETADO

El sector se da cita este otoño en EMPACK MADRID

Celebrado con



**LOGISTICS &
AUTOMATION**

The future of intralogistics technology

by **EASYFAIRS**

¡REGISTRO ABIERTO! Código: 1101

www.empackmadrid.com · madrid@easyfairs.com · +34 91 541 38 03



tar preparada para la medida de acuerdo con las recomendaciones del fabricante y se debe realizar un ensayo de adecuabilidad antes de su uso. Los espectros de referencia y de muestra deben recogerse con los mismos parámetros instrumentales. Los espectros resultantes se comparan entonces cualitativamente. Cuando sea posible, se debe utilizar un patrón de referencia USP [5]. La comparación cualitativa se puede realizar mediante algoritmos utilizando modelos quimiométricos [7]. El método debe ser validado conforme a USP 1225 [8]. En el caso de análisis cualitativos, la especificidad y la robustez del método se deben demostrar durante su validación [7], [8].

Identificación utilizando espectroscopía Raman

Montaje experimental

Para los ensayos de identificación de los API se utilizó un espectrómetro Raman Cora 5001 de Anton Paar con una longitud de onda de excitación de 785 nm (ver Figura 1). El instrumento cumple con USP 858 y, por lo tanto, perfectamente adecuado para los ensayos de identificación utilizando espectroscopía Raman [9]. Para su control, se utilizó el software Spectroscopy Suite de Anton Paar, que cumple plenamente con todos los requisitos de la 21CFRPart11 de la FDA, asegurando además la integridad de datos [4].

Desarrollo del método

Antes de su uso, se comprobó la calibración del instrumento a través del ensayo de adecuabilidad (System Suitability Test) estándar. Como primer paso para el desarrollo del método, se realizaron diferentes ensayos previos para la optimización de las condiciones de medición. El enfoque automático y la determinación automática del tiempo de exposición incorporados en el equipo hacen que este proceso sea rápido y sin sencillo. Los parámetros obtenidos se guardaron en un método que fue creado, revisado y aprobado por los diferentes niveles de usuario según el flujo de trabajo y aprobación definido en el sistema mediante firma electrónica.

A continuación, se creó una librería con los espectros de alta calidad obtenidos a partir de las sustancias de referencia, que también se introdujo en el flujo de aprobación del sistema. Tras la aprobación del responsable los espectros quedaron listos para su uso en la librería espectral de referencia.

		Test samples (average of 3 measurements)									
Reference substances	AAP	ASP	AMX	AZM	CAF	GFX	GLM	DOP	HYA	HYD	IBU
	99,98	11,88	12,86	2,52	4,83	13,53	1,95	5,99	2,21	35,60	8,42
	15,17	97,01	2,62	0,00	2,53	12,54	0,04	13,44	0,02	44,10	11,89
	13,03	2,05	99,98	0,13	0,01	3,59	0,44	1,47	0,18	0,55	8,17
	3,09	0,01	0,05	98,31	2,19	11,01	69,88	4,10	60,23	0,21	7,48
	4,99	3,32	0,01	1,99	99,88	0,25	1,32	5,83	1,23	1,78	0,88
	13,44	10,51	3,56	9,25	0,21	99,99	5,47	4,75	11,93	9,45	2,15
	2,22	0,06	0,28	85,28	1,45	7,69	96,53	4,37	49,00	0,10	15,36
	5,43	14,56	1,41	2,75	5,59	4,19	3,50	99,78	1,37	3,37	8,12
	1,84	0,10	0,20	48,27	0,85	11,08	34,01	1,92	99,35	0,19	2,45
	39,04	37,32	0,56	0,90	2,44	10,95	0,50	4,98	1,13	97,84	7,37
IBU	7,90	11,33	8,17	7,68	0,77	2,03	17,72	8,47	2,46	5,86	99,95

Tabla 2: Matriz HQI que muestra la especificidad y la robustez (promedio de mediciones triples) del método de identificación. Los API marcados en rojo son antibióticos, los API marcados en amarillo son medicamentos OTC.

Desarrollo, publicación y aprobación de la librería espectral

Para cada una de las sustancias se creó una entrada, junto con su correspondiente espectro, en la librería de espectros. El software ofrece la posibilidad de incluir información adicional de la sustancia, como nomenclatura alternativa, símbolos GHS o comentarios personalizados que incluyan cualquier información relevante (número CAS, pureza, fabricante...). A continuación, cada entrada y la librería completa se liberaron para su aprobación. Tras la misma, la librería está lista para su uso en un método de identificación.

Ensayo de identificación

Tal y como requiere la USP, se creó un método de análisis utilizando los mismos parámetros que los empleados para obtener los espectros de la librería. El software ofrece la posibilidad de copiar el método utilizado para adquirir los datos de referencia y añadir los parámetros de identificación, por lo que la igualdad de los parámetros de medición está garantizada. El nuevo método se firma (realiza, revisa, aprueba) por todos los responsables. Y finalmente se realiza la medición e identificación de cada uno de los API (ver Tabla 1).

Algoritmo de coincidencia con la librería

Para realizar la comparación de los espectros de muestra y referencia, el software ofrece un algoritmo de coincidencia Hit Quality Index (HQI).

Los resultados de esta coincidencia algorítmica se encuentran en el rango de cero si no hay ninguna correspondencia a cien para espectros idénticos.

La verificación de las sustancias es muy sencilla, puesto que el algoritmo únicamente necesita que el usuario defina un umbral de coincidencia.

Resultados y validación del método.

La tabla 2 muestra las coincidencias de cada muestra frente a los espectros de referencia utilizando el algoritmo HQI. Se aprecia claramente que todas las sustancias son identificadas con un umbral HQI del 94%. La especificidad del método queda reflejada al comparar los espectros de sustancias con estructuras muy similares, como la azitromicina y la claritromicina, por ejemplo. La diferencia HQI es >12, por lo que ambas sustancias son perfectamente identificables con el algoritmo utilizado a pesar de su similitud estructural.

Otros antibióticos que no tienen estructuras similares, son identificados con diferencias HQI >87. La comparativa visual de los diferentes espectros de los antibióticos mostrada en la Figura 2 ilustra el potencial de discriminación de la espectroscopía Raman.

Los espectros obtenidos para API típicos de medicamentos analgésicos OTC (over-the-counter), como el ibuprofeno, el ácido acetilsalicílico o el acetaminofén son incluso más claros (Figura 3). Los espectros son más limpios debido al hecho de que las moléculas comparadas son relativamente pequeñas con menos centros activos. Los resultados HQI difieren de nuevo en más de 81, mostrando una excelente discriminación usando el sencillo algoritmo HQI.

Las medidas se realizaron por triplicado para evaluar también la repetitividad, las desviaciones estándar variaron entre 0,00004 y 1,36 del HQI. Se recomienda también la comprobación de la repetibilidad y

MAQUINARIA, EQUIPOS Y TECNOLOGÍA

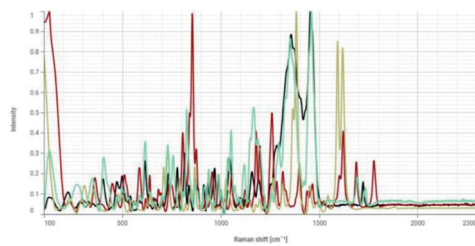


Figura 2: Espectros Raman de cuatro antibióticos diferentes, como se muestra en el menú de procesado del software. Los espectros se han normalizado al pico más alto.

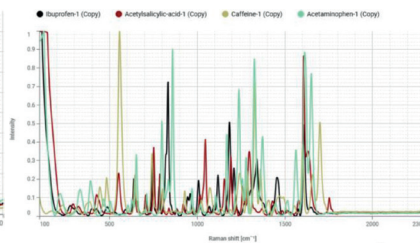


Figura 3: Espectros Raman de API típicos en analgésicos de OTC como se muestra en el menú de procesado del software. Los espectros se han normalizado al pico más alto.

Una vez completada la validación, el método estará listo para su uso en producción.

Conclusión

La espectroscopía Raman junto con un software que permita cumplir con la regulación 21CFRPart11 de la FDA, además de garantizar la seguridad, la integridad y la trazabilidad de los datos, acelera la identificación de API. La validación del método confirma la especificidad y robustez del procedimiento y se realiza con la misma sencillez y rapidez que las propias medidas del ensayo ●

robustez del método realizando la medición de los espectros en días diferentes y por diferentes usuarios.

Referencias

1. USP. Oral Drug Products – Product Quality Tests <2> In: USP-NF. Rockville, MD: USP; Oct 12, 2021. DOI: https://doi.org/10.31003/USPNF_M3211_05_01
2. USP. Topical and Transdermal Drug Products – Product Quality Tests <3> In: USP-NF. Rockville, MD: USP; Oct 12, 2021. DOI: https://doi.org/10.31003/USPNF_M4033_05_01
3. 21 CFR part 210. Current Good Manufacturing. Practice in Manufacturing, Processing, Packing, or Holding of Drugs; General. U. S. Food and Drug Administration, retrieved Nov 11, 2021. <https://www.ecfr.gov/current/title-21/chapter-I/subchapter-C/part-210>
4. 21 CFR part 11. Electronic records; electronic signatures. U. S. Food and Drug Administration, retrieved Oct 12, 2021. <https://www.access-data.fda.gov/SCRIPTS/cdrh/cfdocs/cfrcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=11&showFR=1>
5. Ec.europa.eu. 2015. EudraLex–Volume 4 Good manufacturing prac-

tice (GMP) Guidelines.–European Commission. [online] Available at: https://ec.europa.eu/health/medicinalproducts/eudralex/eudralex-volume-4_en Retrieved Nov 8, 2021.

6. USP. Identification Tests – General <191> In: USP-NF. Rockville, MD: USP; Oct 12, 2021. DOI: https://doi.org/10.31003/USPNF_M98940_09_01
7. USP. Spectroscopic Identification Tests <197> In: USP-NF. Rockville, MD: USP; Oct 12, 2021. DOI: https://doi.org/10.31003/USPNF_M98947_05_01
8. USP. Chemometrics <1039> In: USP-NF. Rockville, MD: USP; Oct 26, 2021. DOI: https://doi.org/10.31003/USPNF_M2345_02_01
9. USP. Validation of Compendial Procedures <1225> In: USP-NF. Rockville, MD: USP; Oct 26, 2021. DOI: https://doi.org/10.31003/USPNF_M99945_04_01
10. USP. Raman Spectroscopy <858> In: USP-NF. Rockville, MD: USP; Oct 12, 2021. DOI: https://doi.org/10.31003/USPNF_M8188_02_01



El fabricante líder mundial de consumibles de laboratorio Earth Friendly®



- Consumibles de laboratorio de alta calidad con un impacto ambiental mínimo
- Fabricados con un 93 % de energía limpia y un 89 % menos de emisiones de gases de efecto invernadero
- Incorporan materiales sostenibles como plásticos reciclables y bioplásticos que secuestran carbono en productos y envases.
- Diseñados, fabricados, envasados y esterilizados en Petaluma, California, EE. UU.



Labcon SuperSlik® 200 uL Beveled Point Low Retention Pipette Tips, in Eclipse™ Refills

Petaluma, California, United States
SKU 1065-260-000-9

Environmental Impact Scale
Decreasing Environmental Impact 1 10

Manufacturing

Manufacturing Impact Reduction	1.0
Renewable Energy Use	Yes
Responsible Chemical Management	1.0
Shipping Impact	10.0
Product Content	1.0
Packaging Content	1.0

User Impact

Energy Consumption (kWh/day)	N/A
Water Consumption (liters/day)	N/A
Product Lifetime	9.2

End of Life

Packaging	4.0
Product	8.8

Innovation

Innovative Practices	-1.0
----------------------	------

Environmental Impact Factor: 35.0

Label Valid Through: June 2023



act.mygreenlab.org

Visite nuestro stand F40 en Labforum

5 y 6 de octubre

labcon.com