

ESTUDO COMPARATIVO ENTRE INFRAVERMELHO PRÓXIMO E RAMAN NA DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE EXCIPIENTE FARMACÊUTICO EM COMPRIMIDOS

COMPARATIVE STUDY BETWEEN NEAR INFRARED AND RAMAN IN THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENT IN TABLETS

1

José Antonio Martins¹, Mariana de Moraes Cardoso², Gabriela Marques Florencio³,
Vagner Sargentelli⁴

1- Doutor em Ciências (Instituto de Química – Unicamp), Cientista de Dados, Nanotimize Tecnologia; 2- Engenheira Ambiental (Unesp – Sorocaba), Acadêmica de Gestão da Tecnologia da Informação (Fatec – Itapira-SP), Analista, Nanotimize Tecnologia; 3- Acadêmica de Gestão da Tecnologia da Informação (Fatec – Itapira-SP), Analista, Nanotimize Tecnologia; 4- Doutor em Química (Instituto de Química, Unesp – Araraquara), Cientista Sênior, Nanotimize Tecnologia.

Contato 1-4: contato@nanotimize.com.br

RESUMO

O infravermelho próximo (NIR), associado à quimiometria, vem sendo utilizado em estudos de deformulação, mas há uma lacuna de dados em relação à técnica Raman quando esta é aplicada para esses estudos. Assim, o objetivo do presente trabalho foi comparar métodos de determinação quantitativa do excipiente hipromelose em comprimidos de desvenlafaxina utilizando-se NIR e Raman, empregando a quimiometria para tratar os resultados. Um delineamento experimental foi utilizado para preparar vinte e duas amostras de calibração. Os espectros no NIR foram obtidos utilizando-se um equipamento MicroNir™ Spectrometer VIAVI entre 908 e 1.676 nm. Os espectros Raman foram coletados utilizando-se o equipamento Raman Cora 501 Anton Paar, entre 4.400 e 100.000 nm. Os dados foram tratados e comparados empregando-se o método quimiométrico por Mínimos Quadrados Parciais (PLS). Os espectros brutos de calibração no NIR e no Raman apresentaram boa resolução após normatização e transformação, o que possibilitou, consequentemente, a construção de modelos quimiométricos por PLS. Os resultados mostraram que os modelos foram úteis para quantificar o excipiente hipromelose em comprimidos de desvenlafaxina empregando tanto o NIR quanto o Raman. Em conclusão: a estratégia de modelagem se mostrou viável e as técnicas equivalentes na quantificação de hipromelose em comprimidos de desvenlafaxina.

Palavras-chave: Infravermelho próximo. Raman. Quimiometria.

ABSTRACT

Near infrared (NIR), associated with chemometrics, has been used in deformation studies, but there is a lack of data regarding the Raman technique when it is applied for these studies. Thus, the objective of the present work was to compare methods of quantitative determination of the excipient hypromellose in desvenlafaxine tablets using NIR and Raman, using chemometrics to treat the results. An experimental design was used to prepare twenty-two calibration samples. The NIR spectra were obtained using a VIAVI MicroNIR™ Spectrometer equipment between 908 and 1676 nm. The Raman spectra were collected using the Raman equipment Cora 501 Anton Paar, between 4,400 and 100,000 nm. The data were treated and compared using the Partial Least Squares (PLS) chemometric method. The raw NIR and Raman calibration spectra showed good resolution after standardization and transformation, which consequently enabled the construction of chemometric models by PLS. The results showed that the models were useful to quantify the excipient hypromellose in desvenlafaxine tablets using both NIR and Raman. In conclusion: the modeling strategy proved to be viable and the techniques equivalent in the quantification of hypromellose in desvenlafaxine tablets.

Keywords: Near infrared. Raman. Chemometrics.

INTRODUÇÃO

O infravermelho próximo (NIR – *Near Infrared*) é um tipo de espectroscopia vibracional que corresponde à faixa de comprimento de onda de 750 a 2.500 nm (números de onda de 13.300 a 4.000 cm^{-1}). Os métodos analíticos resultantes do uso da região espectroscópica NIR refletem suas características mais significativas, tais como: rápido (um minuto ou menos por amostra), não destrutivo, não invasivo, com alta penetração do feixe de radiação de sondagem, adequado para uso em linha, aplicação quase universal (qualquer molécula contendo ligações C-H, NH, S-H ou O-H), com exigências mínimas de preparação de amostra. O uso desta técnica envolve o estudo das vibrações moleculares quando a radiação infravermelha interage com a amostra a ser investigada (PASQUINI, 2003; PASQUINI, 2018).

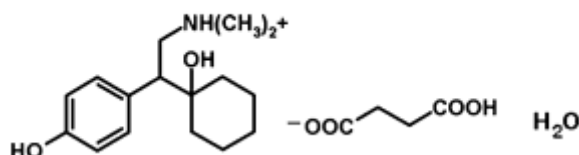
A espectroscopia Raman, que também é vibracional, corresponde à faixa de comprimento de onda de 4.400 e 100.000 nm (números de onda de 2300 a 100 cm^{-1}). De modo análogo ao NIR, os métodos analíticos resultantes do uso do Raman refletem características que são o rápido registro do espectro, não destrutivo, não invasivo e aplicação quase universal mas que, neste caso, envolve o espalhamento

inelástico sofrido pela radiação eletromagnética após a mesma interagir com o material sob investigação. Para os estudos com esta técnica, utiliza-se um equipamento que contém um feixe de radiação eletromagnética monocromática (um *laser – Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*). O feixe é direcionado para a substância a ser investigada. As ligações moleculares na substância apresentam transições de energia específicas e sofrem uma mudança em suas polarizabilidades, dando origem aos modos ativos no Raman (SMITH; DENT, 2005; SHRIVER et al., 2008).

O rápido progresso na miniaturização dos espectrômetros NIR e Raman aproveitou as novas tecnologias e levou a uma redução drástica dos tamanhos e pesos dos espectrômetros, permitindo um bom desempenho devido à implementação de alta precisão de elementos importantes no dispositivo final, sendo que o principal avanço nas aplicações tecnológicas destas técnicas foi possível pelo desenvolvimento da computação e pela nova disciplina de quimiometria. A quimiometria envolve a aplicação de métodos estatísticos e matemáticos, bem como aqueles baseados na lógica matemática, à análise química, fornecendo as ferramentas para a coleta de informações e seu uso racional (OTTO, 2017; BROWN, 2017).

O NIR, associado à quimiometria, vem sendo utilizado em deformulação, mas há uma lacuna de dados em relação à técnica Raman quando esta é aplicada para esse propósito. Então, para a realização de um estudo desta natureza, selecionou-se o medicamento desvenlafaxina e o excipiente hipromelose.

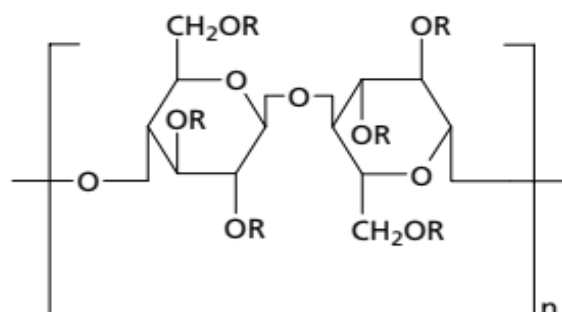
A desvenlafaxina, (4-[2-dimetilamino-1-(1-hidrox ciclohexil)etil]fenol – $C_{16}H_{25}NO_2$), é um importante antidepressivo que pertence a uma classe de medicamentos chamados inibidores da recaptação de serotonina-norepinefrina e é usada para tratar transtorno depressivo. A desvenlafaxina atua aumentando os níveis de serotonina e noradrenalina no cérebro, que são neurotransmissores envolvidos no controle do humor, sono e apetite. Ao equilibrar esses neurotransmissores, a desvenlafaxina ajuda a melhorar o humor e reduzir os sintomas da depressão. Este medicamento é administrado por via oral. Os comprimidos de desvenlafaxina contém o insumo farmacêutico ativo (IFA) na forma de succinato (succinato de desvenlafaxina monoidratado ($C_{16}H_{25}NO_2 \cdot C_4H_6O_4 \cdot H_2O$)), Figura 1 (DUGGIRALA et al., 2009).

Figura 1. Estrutura química do succinato de desvenlafaxina monoidratado

Fonte: (DUGGIRALA et al., 2009).

4

Entre os excipientes que se encontram na formulação do medicamento desvenlafaxina encontra-se a hipromelose. A hipromelose tem um esqueleto polimérico de celulose e é produzido pelo processamento da polpa de celulose com soda cáustica, então reagindo com cloreto de metila e óxido de propileno, levando à substituição de hidroxipropil nas unidades de anidroglicose (CHAN, 2003). O grupo substituinte hidroxipropil ($-\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$) tem um secundário grupo hidroxila no carbono número 2 e é a proporção de substituição de hidroxipropil e metil que dá a uma hipromelose particular características, Figura 2 (LI et al, 2005). A hipromelose é solúvel em água e é comumente utilizada como um agente espessante, estabilizante e emulsificante em produtos farmacêuticos, cosméticos e alimentos. A hipromelose proporciona a liberação de um fármaco de maneira controlada, aumentando efetivamente a duração da liberação de um fármaco para prolongar seu efeito terapêutico. Portanto, trata-se de um relevante excipiente (LI et al., 2005).

Figura 2. Estrutura química da hipromelose. $R = \text{H}, \text{CH}_3 \text{ ou } [\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2]$

Fonte: (LI et al., 2005).

Assim, o objetivo do presente trabalho foi comparar métodos de determinação quantitativa do excipiente hipromelose em comprimidos de desvenlafaxina, que contém o insumo farmacêutico ativo (IFA) na forma de succinato, utilizando-se NIR e Raman, e empregando a quimiometria como ferramenta para tratar os resultados.

MATERIAL E MÉTODOS

Planejamento Experimental

Com o objetivo de mapear o espaço de combinações quantitativas possíveis dos excipientes hipromelose do medicamento de referência (desvenlafaxina – 100 mg, que contém 151,77 mg de succinato de desvenlafaxina monoidratado), um planejamento experimental (DoE – *Design of Experiment*) foi utilizado para preparar dois conjuntos de vinte e duas amostras de calibração. Para a hipromelose, variou-se o teor deste excipiente nas vinte e duas amostras em relação a um placebo (A) (mistura que continha todas as substâncias do medicamento de referência, exceto a hipromelose). Cada amostra foi preparada pesando-se em balança de precisão analítica Shimadzu AY220, transferida para cadinho, macerada e homogeneizada com pistilo. O preparo do medicamento de referência contou com a retirada do revestimento de três comprimidos, do mesmo lote, para a análise em separado, sendo estes macerados e, em seguida, homogeneizados.

As composição do placebo (A) é apresentada na Tabela 1, na qual o termo planejamento refere-se ao que foi estabelecido para a construção do modelo quimiométrico e o termo medido refere-se à massa (em gramas, g) efetivamente pesada. Salienta – se, aqui, que o uso de cores na Tabela 1, e nas demais tabelas que seguem, trata-se apenas de um critério de visualização.

Tabela 1. Composição do placebo (A), em que P = planejamento e M = medido.

Substância	Placebo (A)	
	P, g	M, g
IFA	18,9000	18,9007
Excipiente 1	5,8500	5,8506
Excipiente 2	0,9000	0,9008
Excipiente 3	1,1250	1,1259
Talco	1,1250	1,1254
Hipromelose	0,0000	0,0000

Fonte: obtido pelos autores.

As composições das amostras preparadas para os estudos de calibração do excipiente hipromelose estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2. Amostras preparadas para os estudos com o excipiente hipromelose, na qual: P = planejamento; M = medido, g = gramas e % = porcentagem.

Amostra	Hipromelose (HIP)		Placebo A		Total, g	(HIP) M, %
	P, g	M, g	P, g	M, g		
01H	0,0650	0,0652	1,9350	1,9350	2,0000	3,26
02H	0,1300	0,1305	1,8700	1,8701	2,0000	6,53
03H	0,1950	0,1953	1,8050	1,8054	2,0000	9,77
04H	0,2600	0,2608	1,7400	1,7403	2,0000	13,04
05H	0,3250	0,3258	1,6750	1,6759	2,0000	16,29
06H	0,3900	0,3909	1,6100	1,6109	2,0000	19,55
07H	0,4550	0,4559	1,5450	1,5452	2,0000	22,80
08H	0,5200	0,5208	1,4800	1,4800	2,0000	26,04
09H	0,5850	0,5858	1,4150	1,4152	2,0000	29,29
10H	0,6500	0,6502	1,3500	1,3500	2,0000	32,51
11H	0,7150	0,7150	1,2850	1,2850	2,0000	35,75
12H	0,7800	0,7803	1,2200	1,2200	2,0000	39,02
13H	0,8450	0,8455	1,1550	1,1551	2,0000	42,28
14H	0,9100	0,9104	1,0900	1,0901	2,0000	45,52
15H	0,9750	0,9751	1,0250	1,0258	2,0000	48,76
16H	1,0400	1,0408	0,9600	0,9605	2,0000	52,04
17H	1,1050	1,1051	0,8950	0,8956	2,0000	55,26
18H	1,1700	1,1701	0,8300	0,8307	2,0000	58,51
19H	1,2350	1,2353	0,7650	0,7656	2,0000	61,77
20H	1,3000	1,3007	0,7000	0,7009	2,0000	65,04
21H	1,3650	1,3658	0,6350	0,6350	2,0000	68,29
22H	1,4300	1,4301	0,5700	0,5709	2,0000	71,51

Fonte: obtido pelos autores.

Métodos Espectroscópicos e Quimiométrico

Os espectros no NIR foram obtidos utilizando-se o equipamento MicroNIR™ 1700 Spectrometer VIAVI – S/N: N1-00105, na faixa espectral de 908 a 1676 nm (números de onda de 11.000 a 6.000 cm^{-1}).

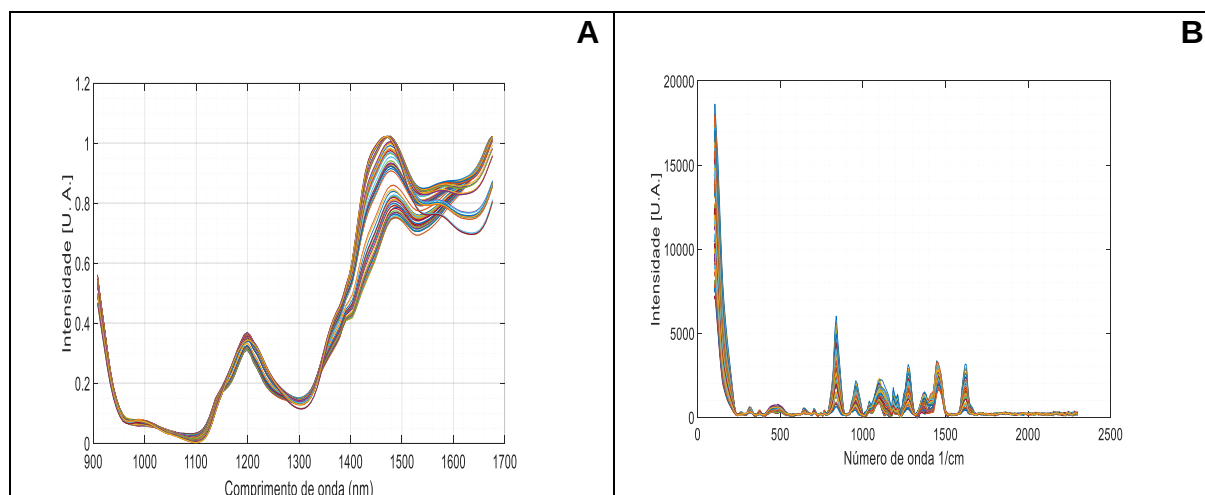
Os espectros Raman foram coletados empregando-se o equipamento Raman Cora 5001 Anton Paar, com laser em 1064 nm, e potência de 0 a 450 mW, na faixa espectral de 4.400 a 100.000 nm^{-1} (números de onda de 2300 a 100 cm^{-1}).

Os dados foram tratados utilizando-se o método quimiométrico por Mínimos Quadrados Parciais (PLS – *Partial Least Squares*), em que se empregaram os softwares PLS_Toolbox, versão 8.2, através da plataforma MatLab® - versão R2014a, e Orange 3.30.2

RESULTADOS

As vinte e duas amostras de calibração para a realização da modelagem para o excipiente hipromelose foram analisadas em triplicata por espectroscopia no NIR e Raman. Os espectros coletados estão ilustrados na Figura 3.

Figura 3. Espectros obtidos para a realização da modelagem para o excipiente hipromelose: (A) NIR; (B) Raman.

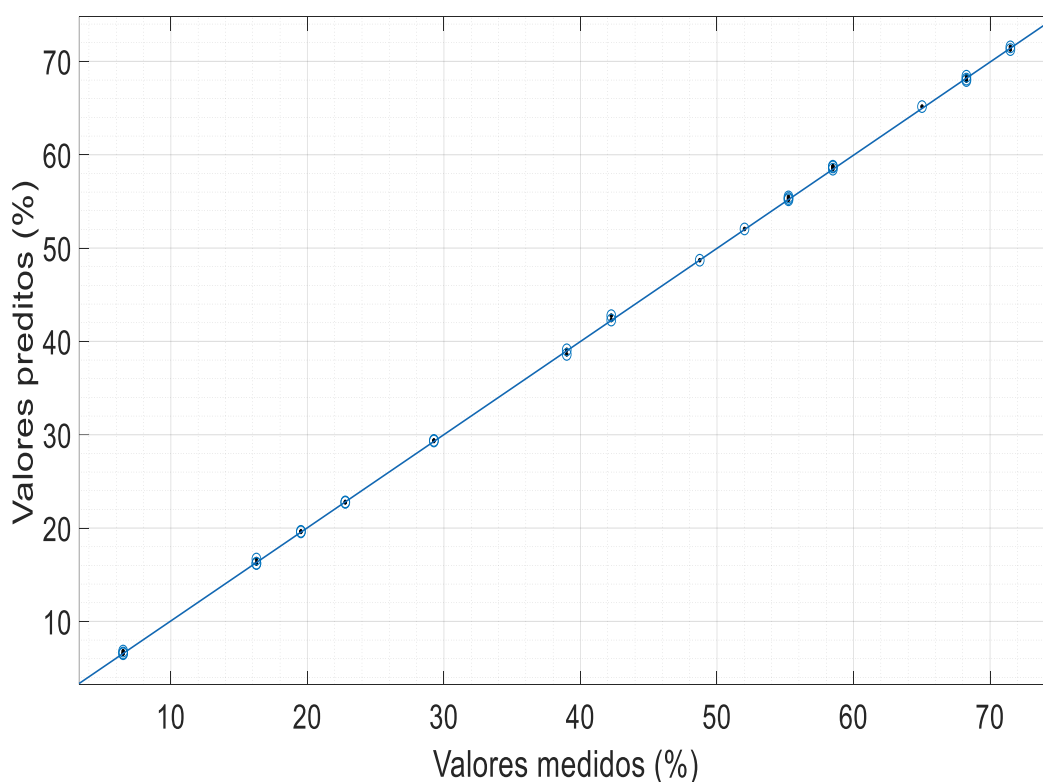


Fonte: obtido pelos autores.

Como pode ser observado na Figura 1A, os espectros apresentaram uma variação na linha de base, o que é comum em análises espectroscópicas de amostras sólidas utilizando-se o NIR. Para reduzir esse deslocamento na linha de base, os dados foram transformados e normalizados, sendo que o mesmo procedimento foi realizado para os espectros Raman. A partir dos dados transformados foram construídos os modelos PLS para o conjunto de calibração para o excipiente hipromelose (no NIR e Raman). As Figuras 4 e 5 mostram as calibrações realizadas para o excipiente hipromelose para as técnicas NIR e Raman, respectivamente.

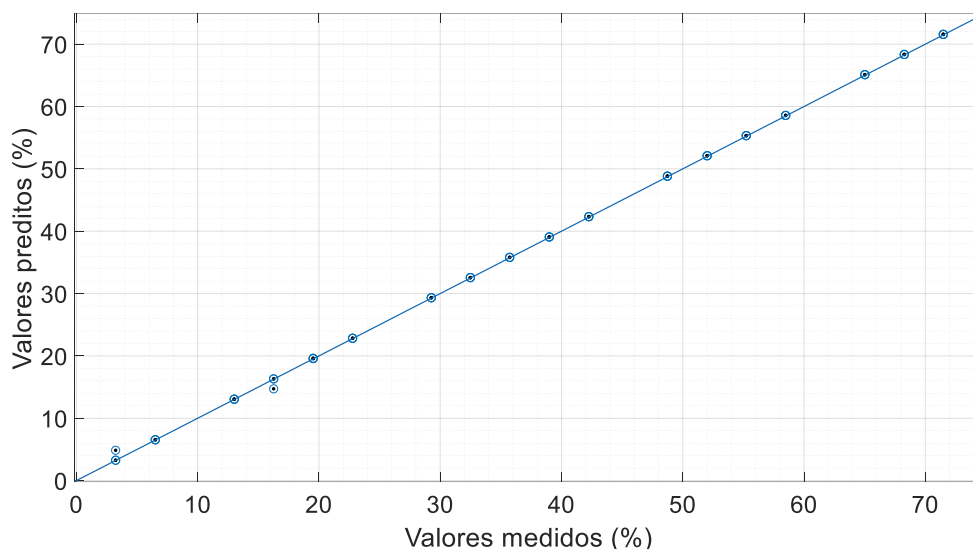
8

Figura 4: Modelo de calibração para o excipiente hipromelose – NIR.



Fonte: obtido pelos autores.

Modelo linear Poly1 $f(x) = p1 \cdot x + p2$; coeficientes (95% de confiança): $p1 = 0,9983$ (0,995; 1,002); $p2 = 0,0561$ (-0,09749; 0,2097). Bondade de ajuste do quadrado somado de resíduos (*Goodness of fit Summed Square of Residuals – SSE*): 1,007; R^2 : 0,9999; R^2 ajustado: 0,9999; Raiz quadrada do erro médio (RMSE – *Root Mean Squared Error*): 0,1896.

Figura 5: Modelo de calibração para o excipiente hipromelose – Raman.

Fonte: obtido pelos autores.

Modelo linear Poly1 $f(x) = p1 \cdot x + p2$; coeficientes (95% de confiança): $p1 = 0,9998$ (0,9957; 1,004); $p2 = 0,008173$ (-0,1683; 0,1847). Goodness of fit SSE: 5,06; R^2 : 0,9998; R^2 ajustado: 0,9998; RMSE: 0,312.

Do conjunto inicial de vinte e duas amostras contendo hipromelose, foram separadas quatro para testar e validar os modelos construídos, sendo que essas quatro amostras foram retiradas (aleatoriamente, mas cobrindo toda a faixa de concentração) de pontos distintos do interior da curva de calibração. As Tabelas 3 e 4 mostram os valores medidos (pesados) e os resultados preditos (obtidos com modelo quimiométrico construído a partir dos dados espectrais) para as quatro amostras separadas da modelagem para validação da calibração para o excipiente hipromelose: NIR, Tabela 3, e Raman, Tabela 4. As médias apresentadas referem-se aos valores preditos. Para cada amostra os dados estão em triplicata. Para melhor entendimento, deve-se observar os valores médios (preditos) em comparação com os medidos, para cada amostra, em ambas as Tabelas. O termo precisão, nestas duas Tabelas, se refere aos valores preditos (média e desvio padrão) enquanto que o termo exatidão compara a média dos valores preditos obtida com o valor medido, para cada amostra.

Tabela 3. Resultados obtidos para as quatro amostras de validação do método de calibração para o excipiente hipromelose – NIR.

Amostra	Medido, %	Predito, %	Precisão		Exatidão
			Média, %	Desvio Padrão	
03H	9,77	14,57	15,37	1,16	5,60
03H	9,77	14,62			
03H	9,77	17,05			
08H	26,04	26,03	27,57	1,12	1,53
08H	26,04	28,13			
08H	26,04	28,63			
14H	45,52	50,65	49,73	0,88	4,21
14H	45,52	50,01			
14H	45,52	48,54			
19H	61,77	61,96	60,51	1,02	-1,26
19H	61,77	59,92			
19H	61,77	59,68			

Fonte: obtido pelos autores.

Tabela 4. Resultados obtidos para as quatro amostras de validação do método de calibração para o excipiente hipromelose –Raman.

Amostra	Medido, %	Predito, %	Precisão		Exatidão
			Média, %	Desvio Padrão	
03H	9,77	14,14	8,87	3,82	-0,90
03H	9,77	4,82			
03H	9,77	10,24			
08H	26,04	27,36	24,05	2,73	-1,99
08H	26,04	20,70			
08H	26,04	24,56			
14H	45,52	41,45	43,12	1,23	-2,40
14H	45,52	43,59			
14H	45,52	44,36			
19H	61,77	63,83	61,86	4,09	0,09
19H	61,77	65,84			
19H	61,77	56,34			

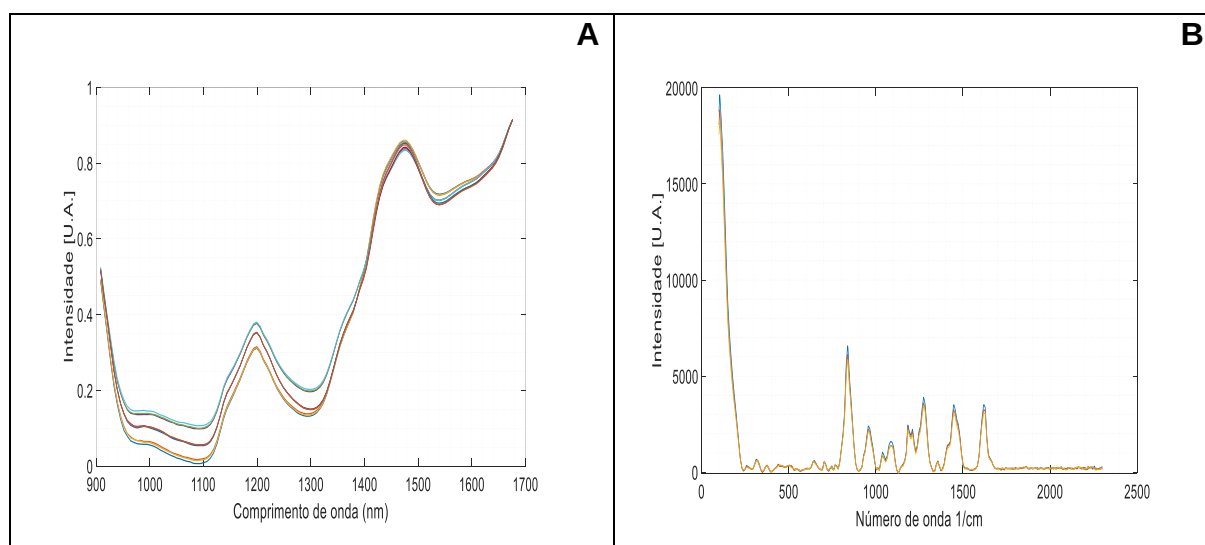
Fonte: obtido pelos autores.

Após verificação e validação dos modelos construídos, os mesmos foram utilizados na predição da hipromelose no medicamento de referência. Os espectros no NIR e Raman do medicamento de referência são apresentados na Figura 6. As

Tabelas 5 e 6 mostram os valores médios de porcentagens do excipiente hipromelose encontrados para as três amostras da desvenlafaxina – 100 mg conforme modelagem NIR, Tabela 5, e Raman, Tabela 6. Para cada amostra os resultados estão em triplicata.

11

Figura 6. Espectros da desvenlafaxina – 100 mg: (A) NIR; (B) Raman.



Fonte: obtido pelos autores.

Tabela 5. Resultados da predição do excipiente hipromelose em três amostras de comprimidos de desvenlafaxina – 100 mg, modelagem NIR.

Amostra	Predito, %	Média, %	Desvio Padrão
1	62,81	62,90	0,122
1	63,07		
1	62,82		
2	63,44	63,44	0,000
2	63,44		
2	63,44		
3	63,44	63,44	0,000
3	63,44		
3	63,44		

Fonte: obtido pelos autores.

Tabela 6. Resultados da predição do excipiente hipromelose em três amostras de comprimidos de desvenlafaxina – 100 mg, modelagem Raman.

Amostra	Predito, %	Média, %	Desvio Padrão
1	62,95	62,98	0,049
1	62,94		
1	63,05		
2	62,93	62,93	0,001
2	62,94		
2	62,93		
3	62,93	62,93	0,002
3	62,93		
3	62,93		

Fonte: obtido pelos autores.

DISCUSSÃO

Para o excipiente hipromelose, o modelo de calibração no NIR, Figura 4, apresentou bom coeficiente de determinação (R^2 ajustado de 0,9999), assim como para o modelo de calibração para o Raman, Figura 5, (R^2 ajustado de 0,9998), evidenciando adequada correlação linear entre os dados tanto no NIR quanto no Raman, permitindo que os modelos pudessem ser validados. Os resultados da validação, Tabelas 3 e 4, mostram que os valores preditos estão em concordância com os valores medidos, tanto no NIR, Tabela 4, quanto para o Raman, Tabela 5, onde, em ambos os casos, obtiveram-se bons valores (médios) preditos em comparação com os medidos, especialmente para teores de hipromelose acima de 60,0% (amostra 19H). Isto possibilitou a aplicação dos modelos quimiométricos para a quantificação do excipiente hipromelose na desvenlafaxina – 100 mg, cujos resultados foram reportados nas Tabelas 5 (NIR) e 6 (Raman). Uma comparação dos valores da Tabela 5 com os da Tabela 6, evidencia boa correlação entre os mesmos, em que a média das médias para o teor de hipromelose na Tabela 5 é igual a 63,26% (desvio padrão de 0,3118), e a média das médias na Tabela 6 de 62,95% (desvio padrão de 0,0289). Efetuando – se uma análise estatística, utilizando as médias,

Tabela 5 e 6, através de análise de variância (ANOVA – teste F), constata-se que, ao nível de significância de 5%, as médias encontradas com os dois equipamentos são equivalentes. Ressalta-se que a concentração de hipromelose determinada está acima de 60,0%, e, como anteriormente mencionado, é esta a faixa de concentração das amostras em que os resultados médios encontrados com a modelagem por PLS, em comparação com os valores medidos, na validação, Tabelas 3 e 4, foram mais satisfatórios, tanto no NIR quanto no Raman.

CONCLUSÃO

A estratégia de modelagem se mostrou viável e as técnicas equivalentes na quantificação de hipromelose em comprimidos de desvenlafaxina.

REFERÊNCIAS

BROWN, S. D. The chemometrics revolution re-examined, **Journal Chemometrics**, v. 31: e3856, p. 1–23, 2017.

CHAN, L. W. et al. Anti-tack action of polyvinylpyrrolidone on hydroxypropylmethylcellulose solution. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 51, 107–112, 2003.

DUGGLIRALA, N. K. et al. Polymorphism in desvenlafaxine succinate monohydrate, **CrystEngComm**, v. 11, 989–992, 2009.

LI, C. H. et al. The use of hypromellose in oral drug delivery, **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 57, 533–543, 2005.

OTTO, M. **Chemometrics: Statistics and computation application in analytical chemistry**, 3. ed., Weinheim: Wiley-VHC Verlag GmbH & Co. KGaA, 2017.

PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications, **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p. 198–219, 2003.

PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: A mature analytical technique with new perspective – A review, **Analytical Chemistry**, v. 1026, p. 8–36, 2018.

SHRIVER, D. F. et al. **Química Inorgânica**, 4. ed., Porto Alegre: Bookman, 2008.

SMITH, E.; DENT, G. **Modern Raman Spectroscopy: A Practical Approach**, Chichester, John Wiley & Sons, Inc., 2005.

Os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.