



**Universitat
Autònoma
de Barcelona**

**ANÁLISIS DE CONTROL DE PREPARADOS
FARMACÉUTICOS MEDIANTE ESPECTROSCOPIA
EN EL INFRARROJO PRÓXIMO**

Memoria presentada por Nuria Pou Saboya para
optar al grado de Doctora en Ciencias Químicas.

Bellaterra, junio de 2002

Grup de Quimiometria Aplicada
Unitat de Química Analítica
Departament de Química

Edifici C
08193 Bellaterra (Barcelona) Spain
Tel: (3) 581 17 12
Fax: (3) 581 23 79
E-mail: gr.quimiometria@uab.es



Dra. Hortensia Iturriaga Martínez, Catedrática de Química Analítica de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Barcelona, y

Dr. Santiago Maspoch Andrés, Catedrático de Química Analítica de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Barcelona,

CERTIFICAN: Que el presente trabajo de investigación titulado “**Análisis de control de preparados farmacéuticos mediante espectroscopia en el infrarrojo próximo**”, que constituye la Memoria presentada por Nuria Pou Saboya para aspirar al grado de Doctor en Ciencias Químicas, ha sido realizado bajo nuestra dirección y reuniendo, según nuestro parecer, las condiciones exigidas para este tipo de trabajo.

Y para que quede constancia, expiden y firman el presente certificado en Bellaterra, a 26 de junio de dos mil dos.

Dr. H. Iturriaga

Dr. S. Maspoch

A la mare, perquè li hauria agradat veure aquest treball acabat.

Al pare, per tot el suport que sempre m'ha donat.

A l'Antxon, perquè sense ell això mai no hauria existit.

*Als "jefes", Dr. Blanco, Hortensia i Santi, per haver-me donat
l'oportunitat de realitzar aquesta tesi.*

*I, per últim, als meus amics i companys, als qui he d'agrair la gran
paciència que han tingut amb mi, sobretot en aquells
moments de nerviosisme descontrolat.*

Agradezco a la Direcció General de Investigació Científica y Tècnica (DGICYT) el apoyo financiero recibido para la realización de los trabajos presentados en esta memoria, como parte de los proyectos PB96-1180 y BQU2000-0234. También quiero agradecer el apoyo financiero recibido por la Direcció General d'Universitats de la Generalitat de Catalunya en la forma de una beca FPI.

Índice

OBJETIVOS Y CONTENIDO DE LA TESIS.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	5
1.1. Espectroscopia en el infrarrojo próximo (NIR).....	7
1.1.1. Introducción.....	7
1.1.2. Origen de la absorción en el infrarrojo próximo.....	8
1.1.3. Modos de registro en NIR.....	12
1.1.3.1. Medidas por reflectancia difusa.....	12
1.1.3.2. Medidas por transmisión.....	15
1.1.4. Instrumentación.....	16
1.1.4.1. Fuente de radiación.....	17
1.1.4.2. Sistema de selección de longitudes de onda.....	17
1.1.4.3. Compartimento para la muestra.....	19
1.1.4.4. Detectores.....	20
1.1.5. Ventajas e inconvenientes de la espectroscopia NIR.....	20
1.1.6. Espectroscopia NIR en el control de procesos.....	22
1.2. Quimiometría.....	24
1.2.1. Introducción.....	24

1.2.2. Etapas del proceso de calibración.....	24
1.2.3. Pretratamientos espectrales.....	25
1.2.3.1. Derivación.....	26
1.2.3.2. Variable normal estándar.....	27
1.2.3.3. Corrección ortogonal de la señal.....	27
1.2.4. Análisis en componentes principales (PCA).....	28
1.2.4.1. Tratamiento previo de los datos.....	28
1.2.4.2. Interpretación del PCA.....	29
1.2.5. Métodos de reconocimiento de pautas.....	31
1.2.5.1. Identificación y cualificación en espectroscopia NIR.....	32
1.2.5.1.1. Estrategia para el análisis cualitativo en espectroscopia NIR....	33
1.2.5.1.2. Identificación por correlación en el espacio de las longitudes de onda.....	34
1.2.5.1.3. Identificación por distancia en el espacio de las longitudes de onda.....	36
1.2.5.1.4. Identificación por varianza residual.....	38
1.2.6. Análisis cuantitativo.....	39
1.2.6.1. Clasificación de los métodos de calibración.....	40
1.2.6.2. Regresión lineal múltiple (MLR).....	41
1.2.6.2.1. Regresión lineal múltiple clásica (CLS).....	41
1.2.6.2.2. Regresión lineal múltiple inversa (ILS).....	45
1.2.6.3. Métodos de calibración basados en la reducción de variables.....	47
1.2.6.3.1. Regresión en componentes principales (PCR).....	47
1.2.6.3.2. Regresión parcial por mínimos cuadrados (PLSR).....	49
1.2.6.3.3. Evaluación de la capacidad predictiva de un modelo.....	50
1.2.6.3.4. Elección del número de componentes principales.....	53
1.3. Control de calidad en la industria farmacéutica.....	54
1.3.1. Introducción.....	54
1.3.2. Evolución histórica de la normativa en el siglo XX.....	55
1.3.3. Gestión de la calidad.....	57
1.3.3.1. Garantía de calidad.....	58
1.3.3.2. Normas de correcta fabricación de medicamentos.....	58
1.3.3.3. Control de calidad.....	60
1.3.4. Validación de métodos analíticos.....	61
1.3.4.1. Definición de validación.....	61

1.3.4.2. Otros términos relacionados con la validación.....	62
1.3.4.3. Tipos de validación.....	63
1.3.4.4. Razones que justifican la validación de métodos analíticos.....	63
1.3.4.5. Estrategia de validación.....	64
1.3.4.6. Validación de métodos de análisis en la industria farmacéutica.....	65
1.3.4.6.1. Selectividad.....	67
1.3.4.6.2. Linealidad.....	68
1.3.4.6.3. Rango o intervalo de concentración.....	68
1.3.4.6.4. Exactitud.....	69
1.3.4.6.5. Precisión.....	70
1.3.4.6.6. Límite de detección.....	72
1.3.4.6.7. Límite de cuantificación.....	73
1.3.4.6.8. Robustez.....	73
1.3.4.6.9. Test de idoneidad del sistema.....	74
1.3.4.7. Revalidación.....	74
1.4. Bibliografía.....	75
2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	81
2.1. Introducción.....	83
2.2. Instrumentación.....	83
2.3. Programas de cálculo.....	84
2.4. Módulos utilizados en el registro del espectro NIR.....	84
2.5. Estudios preliminares con el módulo de RCA.....	86
2.6. Utilización del aire acondicionado.....	90
2.7. Bibliografía.....	92
3. DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO EN EL INFRARROJO PRÓXIMO PARA EL ANÁLISIS DE UN PREPARADO FARMACÉUTICO.....	93
3.1. Introducción.....	95
3.2. Experimental.....	96
3.2.1. Instrumentación y software.....	96
3.2.2. Descripción de las muestras de producción.....	97
3.2.3. Preparación de las muestras de laboratorio.....	98

3.2.4. Método de referencia UV-Visible.....	98
3.2.5. Registro de los espectros NIR.....	99
3.2.6. Procesado de los datos.....	101
3.2.6.1. Proceso de identificación.....	101
3.2.6.2. Análisis cuantitativo.....	102
3.3. Resultados y discusión.....	102
3.3.1. Desarrollo del método de identificación.....	102
3.3.2. Validación del método de identificación.....	104
3.3.3. Desarrollo del método de cuantificación.....	105
3.3.4. Validación del método de cuantificación.....	107
3.3.4.1. Precisión.....	108
3.3.4.2. Exactitud y linealidad.....	109
3.3.4.3. Robustez.....	112
3.4. Conclusiones.....	113
3.5. Bibliografía.....	113
4. DESARROLLO DE UN MÉTODO CUALITATIVO EN EL INFRARROJO PRÓXIMO PARA EL ANÁLISIS DE UN PREPARADO FARMACÉUTICO.....	115
4.1. Introducción.....	117
4.2. Experimental.....	119
4.2.1. Instrumentación y software.....	119
4.2.2. Descripción de las muestras de producción.....	119
4.2.3. Preparación de las muestras de laboratorio.....	120
4.2.4. Registro de los espectros NIR.....	121
4.2.5. Procesado de los datos.....	121
4.3. Resultados y discusión.....	123
4.3.1. Desarrollo del método de identificación para muestras de producción.....	123
4.3.2. Selectividad del método de identificación a pequeños cambios en la composición del fármaco.....	125
4.3.3. Aumento de la selectividad de la biblioteca.....	127
4.3.4. Desarrollo de un método de identificación selectivo frente a la presencia de la forma racémica del principio activo.....	133
4.4. Conclusiones.....	137
4.5. Bibliografía.....	138

5. INFLUENCIA DEL MÉTODO UTILIZADO PARA PREPARAR LAS MUESTRAS DEL CONJUNTO DE CALIBRACIÓN EN UN MÉTODO EN EL INFRARROJO PRÓXIMO.....	141
5.1. Introducción.....	143
5.1.1. Aplicación de la espectroscopia NIR al análisis farmacéuticos: antecedentes.....	144
5.2. Experimental.....	149
5.2.1. Instrumentación y software.....	149
5.2.2. Descripción de las muestras de producción.....	149
5.2.3. Preparación de las muestras de laboratorio.....	150
5.2.4. Registro de los espectros NIR.....	150
5.2.5. Procesado de los datos.....	151
5.3. Resultados y discusión.....	152
5.3.1. Desarrollo del método de cuantificación.....	152
5.3.2. Evaluación de la linealidad de los métodos de cuantificación.....	155
5.4. Conclusiones.....	160
5.5. Bibliografía.....	161
6. INFLUENCIA DE LA HETEROGENEIDAD DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA EN UNA CALIBRACIÓN EN EL INFRARROJO PRÓXIMO.....	165
6.1. Introducción.....	167
6.2. Experimental.....	168
6.2.1. Instrumentación y software.....	168
6.2.2. Descripción de las muestras de producción.....	168
6.2.3. Preparación de las muestras de laboratorio.....	170
6.2.4. Método de referencia.....	171
6.2.5. Registro de los espectros NIR.....	172
6.2.6. Procesado de los datos.....	175
6.3. Resultados y discusión.....	175
6.3.1. Molturación y número de espectros promediados.....	175
6.3.2. Desarrollo del método de cuantificación.....	180
6.3.2.1. Estudio previo con muestras sintéticas.....	180
6.3.2.2. Calibración con muestras molturadas.....	181

6.3.2.3. Predicción de las muestras sintéticas y de producción no utilizadas en la calibración.....	183
6.3.2.3.1. Espectros promedio de 3 espectros.....	183
6.3.2.3.2. Espectros promedio de 6 espectros.....	185
6.3.2.3.3. Comparación de los resultados obtenidos al promediar 3 o 6 espectros.....	187
6.4. Conclusiones.....	187
6.5. Bibliografía.....	188
7. EVOLUCIÓN A LO LARGO DEL TIEMPO DE LOS VALORES DE PREDICCIÓN DE UN MODELO DE CALIBRACIÓN POR ESPECTROSCOPIA EN EL INFRARROJO PRÓXIMO.....	191
7.1. Introducción.....	193
7.2. Experimental.....	195
7.2.1. Instrumentación y software.....	195
7.2.2. Descripción de las muestras.....	195
7.2.3. Registro de los espectros NIR.....	195
7.3. Resultados y discusión.....	196
7.3.1. Antecedentes.....	196
7.3.2. Evolución de los valores de predicción.....	196
7.3.3. Estudio de las posibles causas de la variación en los valores de predicción	201
7.3.4. Corrección del modelo de calibración.....	208
7.3.4.1. Corrección mediante la introducción de un bias.....	209
7.3.4.2. Corrección mediante la introducción de un bias y el ajuste de la pendiente.....	211
7.4. Conclusiones.....	211
7.5. Bibliografía.....	212
8. CONCLUSIONES GENERALES.....	213
SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS.....	217

Objetivos y contenido de la tesis

OBJETIVOS Y CONTENIDO DE LA TESIS

La industria farmacéutica necesita disponer de métodos analíticos rápidos y fiables para poder controlar de forma eficiente tanto las materias primas como los productos intermedios o finales, y, en un sentido amplio, el proceso de fabricación.

El objetivo de la presente tesis es el desarrollo de metodologías de análisis aplicables a las distintas necesidades que existen en el control de calidad de la industria farmacéutica. Para llevar a cabo este objetivo se ha utilizado la espectroscopia en el infrarrojo próximo (NIR), implementada con métodos quimiométricos de reconocimiento de pautas y de calibración multivariable. Se ha propuesto esta técnica espectroscópica debido a las ventajas que presenta respecto a otras técnicas analíticas, como la rápida obtención de espectros, la posibilidad de determinar el valor de varios parámetros físico-químicos de una misma muestra a partir de un único espectro o la posibilidad de emplear dicha técnica en la misma línea de producción.

Los trabajos concretos que se han desarrollado han profundizado aspectos diversos, que se pueden describir considerando los siguientes puntos:

- Construcción de bibliotecas de espectros NIR para la identificación de preparados farmacéuticos, estudiando los efectos que pequeñas variaciones en la concentración de sus componentes pueden causar en el resultado obtenido.
- Desarrollo de métodos cuantitativos basados en PLSR (regresión parcial por mínimos cuadrados) para la determinación de principios activos en diversos preparados. Se ha tratado, como caso particular, la problemática causada al analizar muestras que presentan heterogeneidad en el tamaño de partícula.
- Validación de los métodos desarrollados adaptando los criterios de la *International Conference on Harmonisation* (ICH).
- Seguimiento de los resultados obtenidos por un modelo de calibración NIR a lo largo de dos años. Se propone llevar a cabo una adaptación del modelo cuando se detectan pequeñas variaciones sistemáticas en los resultados.